

Aus der Poliklinik und Klinik für Zahn-, Mund- und
Kieferkrankheiten der Freien Universität Berlin
Biophysikalische Abteilung
(Leiter: Prof. Dr. med. dent Hans LENZ)

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE
UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DEN SUBGINGIVALEN ZAHNSTEIN

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der Zahnmedizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hans-Jürgen Schliepe
aus Ortelsburg/Ostpr.

1972



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Poliklinik und Klinik für Zahn-, Mund- und
Kieferkrankheiten der Freien Universität Berlin
Biophysikalische Abteilung
(Leiter: Prof. Dr. med. dent Hans LENZ)

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE
UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DEN SUBGINGIVALEN ZAHNSTEIN

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der Zahnmedizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hans-Jürgen Schliepe
aus Ortelsburg/Ostpr.

Referent: Professor Dr. med. dent. Hans Lenz

Korreferent: Professor Dr. med. Hans-Joachim Merker



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 13. März 1972

Druck: H. Franzen, Berlin, 391 23 25

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. LITERATURÜBERSICHT	3
2.1. Die Ätiologie des Zahnsteins . . .	3
2.1.1. Der supragingivale Zahnstein . . .	3
2.1.2. Der subgingivale Zahnstein	4
2.2. Die Morphologie des Zahnsteins . .	7
2.2.1. Der supragingivale Zahnstein . . .	7
2.2.2. Der subgingivale Zahnstein	14
2.3. Die Chemie des Zahnsteins	19
2.3.1. Organische Fraktion	19
2.3.2. Anorganische Fraktion und Mineralogie	20
2.4. Die Rolle der Mikroorganismen . . .	24
2.5. Haftmechanismen des Zahnsteins . .	27
3. MATERIAL UND METHODEN	29
3.1. Untersuchungen des reifen subgingivalen Zahnsteins	29
3.1.1. Material	29
3.1.2. Methode	29
3.2. Untersuchung des auf Folien aufge- wachsenen subgingivalen Zahnsteins	31

	Seite
3.2.1. Material	31
3.2.2. Methode	33
4. ERGEBNISSE	35
4.1. Der reife subgingivale Zahnstein . .	35
4.2. Ergebnisse der "in vivo" Versuche .	41
ABBILDUNGEN	44
5. DISKUSSION	74
6. ZUSAMMENFASSUNG	86
7. LITERATURVERZEICHNIS	87

1. EINLEITUNG

In der zahnärztlichen Praxis gewinnt die Behandlung der Zahnbetterkrankungen, der sogenannten Parodontopathien, immer mehr an Bedeutung.

Bei der Suche nach ätiologischen Faktoren wird neben den weichen auch den harten Ablagerungen auf den Zahnoberflächen eine besondere Rolle als auslösendes Moment für die Entstehung der Parodontopathien zugeschrieben.

Im klinischen Sprachgebrauch unterscheidet man im allgemeinen zwei Arten von harten, d.h. mineralisierten Ablagerungen: den supragingivalen und den subgingivalen Zahnstein.

Während über Struktur und Genese des supragingivalen Zahnsteins in der Literatur eine Fülle von Arbeiten zu finden ist, ist die Zahl der Veröffentlichungen über den subgingivalen Zahnstein relativ gering. Bedenkt man aber, daß die feineren Strukturen des supragingivalen Zahnsteins, und besonders die des subgingivalen Zahnsteins, an der Grenze des lichtoptischen Auflösungsvermögens liegen, so ist es durchaus verständlich, daß besonders über die Morphologie und Ätiologie des subgingivalen Zahnsteins keine einheitliche Meinung besteht. Die unterschiedliche Nomenklatur für die subgingivalen Ablagerungen, wie z.B. Konkrement, Serumstein, Blutstein usw., deutet dies an.

Durch elektronenmikroskopische Untersuchungen der letzten Jahre konnten die bisherigen Kenntnisse über die Feinstruktur des supragingivalen Zahnsteins wesentlich erweitert werden.

Zusammen mit den Ergebnissen aus Züchtungsversuchen des supragingivalen Zahnsteins auf Trägerfolien in vivo konnten dabei viele offene Fragen über die Ätiologie dieser Ablagerungen geklärt werden.

Über die Ultrastrukturen des subgingivalen Zahnsteins ist dagegen bisher nur wenig bekannt. Auch liegen in der Literatur keine Angaben über erfolgreiche Züchtungsversuche des subgingivalen Zahnsteins vor.

Zweck der vorliegenden Arbeit soll es daher sein, durch elektronenmikroskopische Untersuchungen des subgingivalen Zahnsteins das bisherige Wissen über die Ultrastrukturen zu erweitern, und in Verbindung mit in vivo Versuchen neue Gesichtspunkte über die Ätiologie des subgingivalen Zahnsteins zu erarbeiten.

2. L I T E R A T U R Ü B E R S I C H T

2.1. Die Ätiologie des Zahnsteins

2.1.1. Der supragingivale Zahnstein

Wie aus der Literatur der letzten 20 Jahre hervorgeht, besteht im allgemeinen Einvernehmen darin, in der dentalen Plaque den ätiologischen Faktor für die supragingivale Zahnsteinbildung zu sehen (MANDEL, LEVY und WASSERMANN (1957); SCHNEIDER (1959); ZANDER, HAZEN und SCOTT (1960); LENZ, SCHROEDER und MÜHLEMANN (1964); THEILADE und SCHROEDER (1966); MANDEL (1969); u.v.a.). Nach SCHROEDER (1969) wird die dentale Plaque als eine weiche, trübe, gelb-graue Ablagerung von verschiedenen vitalen und devitalen Mikroorganismen angesehen. Diese sind in eine polysaccharid- und glycoproteinreiche Matrix, die den festen Oberflächen in der Mundhöhle anhaftet, eingelagert. Die Plaque soll ein Produkt der Vermehrung der Mikroorganismen und ihrer Stoffwechseltätigkeit sein und manchmal durch farbgebende Mikroorganismen angefärbt werden. Der supragingivale Zahnstein muß somit als mineralisierter Teil der dentalen Plaque-schicht betrachtet werden. Als Quelle für die anorganischen Bestandteile der mineralisierten Plaque gilt in erster Linie der Speichel. Daraus läßt sich auch das vorzugsweise Auftreten des supragingivalen Zahnsteins im Bereich der Ausführungsgänge der großen Speicheldrüsen erklären.

Dennoch wird von einigen Forschern darauf hingewiesen, daß nicht jede dentale Plaque zur Zahnsteinbildung fähig ist. Bei vergleichenden Untersuchungen der Plaquebeläge von Patienten, die zur Zahnsteinbildung neigen und solchen, die keinerlei Zahnsteinansatz zeigen, fällt ein gewisser Unter-

schied in der Zusammensetzung der anorganischen wie auch organischen Bestandteile der Plaque dieser beiden Patientengruppen auf (MANDEL (1969)).

2.1.2. Der subgingivale Zahnstein

Die Ätiologie des subgingivalen Zahnsteins ist lange Zeit hindurch umstritten gewesen und hat bis in die heutigen Tage keine eindeutige Klärung erfahren. Da der subgingivale Zahnstein fast ausschließlich im Bereich chronisch inflammierter parodontaler Taschen gefunden wird, wurde dies zum Anlaß genommen, die Bedeutung der subgingivalen Ablagerungen in ihrer Beziehung zu chronisch destruierenden Prozessen am Zahnhalteapparat zu diskutieren.

So finden sich in der Literatur zwei Ansichten: die eine Forschergruppe nimmt an, daß beide Zahnsteinarten dem Speichel entstammen und supra- wie subgingivaler Zahnstein eine direkte Ursache für parodontale Entzündungsprozesse darstellen (RÖMER (1903); SACHS (1914); PRINZ (1921); HILLE (1921)). Die zweite Gruppe betrachtet den subgingivalen Zahnstein nicht als direkten ätiologischen Faktor für die Parodontopathien, sondern sieht in ihm ein sekundäres Produkt der entzündlichen Tasche und ihrer Blut- und Serumbestandteile (ARKÖVY (1885); BLACK (1886); BRAMMER (1926); HÄUPL und LANG (1927); BOX (1942); HARNDT, E. (1950); MATHIS (1948)).

Diese unterschiedlichen Ansichten schlagen sich auch in einer Reihe synonym gebrauchter Bezeichnungen für die mineralisierten Ablagerungen auf den submarginal gelegenen Zahnwurzeln nieder. So unterteilt BLACK (1886) die "deposits of calculus" in "salivary calculus" (Speichelstein) und "serumal calculus" (Serumstein). ARKÖVY (1885) bringt die Verschiedenartigkeit der beiden Zahnsteinarten durch die be-

griffliche Trennung in Zahnstein und subgingivale Konkremente zum Ausdruck. Dieser Nomenklatur schließen sich BRAMMER (1926), HARNDT, E. (1950) und HÖHLING und WANNEN-MACHER (1962) an. SENN (1902) und BURCHARD und INGLIS (1915) sehen in den Eiterabsonderungen der entzündlichen Zahnfleischtasche die Quelle des Mineralisationsprozesses und sprechen daher von "pyogenic calculus" (Eiterstein). BRAMMER (1926), der sich als einer der ersten intensiver in einer histologischen Studie mit dem Erscheinungsbild der Konkrementbildung bei der sogenannten Alveolarpyorrhoe befaßte, kam zu dem Ergebnis: "Zum Begriff des Konkrements scheint mir aber mit Sicherheit als Unterschied vom gewöhnlichen Zahnstein zu gehören, daß außer abgestoßenen Epithelien auch Eiterzellen und Gewebstrümmer beteiligt sind, die in den Verkalkungsprozeß zunächst einbezogen werden und im weiteren Verlauf der Konkrementbildung dann in den Vordergrund treten".

In offensichtlicher Anlehnung an BRAMMER bringt MÉZL (1950) eine interessante Variante in die Diskussion über die Ätiologie des subgingivalen Zahnsteins ein. Er unterscheidet ebenfalls aufgrund histologischer Studien zwei Formationsmechanismen: 1. die endogene Bildung, als einen pathologischen Prozeß im Körperinnern, bei dem die Substrate der Zahnsteinbildung sich in den Körpergeweben außerhalb des Mundmilieus und unerreichbar für den Speichel ablagern. Der so gebildete subgingivale Zahnstein soll demnach in der Hauptsache als Verkalkungsprodukt des entzündlichen Granulationsgewebes, das die Zahnfleischtasche auskleidet, angesehen werden. MÉZL versucht damit eine Parallele zu pathologischen Verkalkungsvorgängen an anderen Stellen des menschlichen Körpers zu ziehen.

2. Die exogene Bildung (= supragingivale Zahnsteinbildung), die einen Mineralisationsvorgang an den frei in den Speichel ragenden Zahnabschnitten darstellt.

Allgemein hat sich heute jedoch die Ansicht durchgesetzt, den subgingivalen Zahnstein als sekundäres Produkt eines entzündlichen Geschehens einzuordnen. Durch die Apposition von infektiösem Material und durch mechanische Irritation der parodontalen Gewebe unterhält der Zahnstein die Entzündung und verhindert ein Ausheilen.

Zur Frage der Bedeutung der entzündlichen Sekrete für die Mineralisationsvorgänge im submarginalen Bereich liegen einige experimentelle Arbeiten vor. So applizierte WAERHAUG (1955) Probanden mit pathologischen und Hunden mit physiologischen Zahnfleischtaschen Vitalfarbstoffe auf Zahnfleisch und Zähne und konnte dabei nachweisen, daß diese Stoffe nicht in die Taschen einzudringen vermögen. Im Gegenteil, ein ständiger Strom von Sekreten aus der Tasche in die Mundhöhle schwemmt in die Taschen eingebrachte "india ink" innerhalb 48 Stunden vollkommen aus, WAERHAUG und STEEN (1952).

Zu einem gleichen Ergebnis kamen BRILL und KRASSE (1958) in ihren Experimenten mit Hunden. Nach intravenöser Zufuhr von Fluorescein konnte dieses bereits 30 Sekunden später in den physiologischen Zahnfleischtaschen nachgewiesen werden, während das übrige Mundschleimhautepithel frei von Fluorescein blieb. Diese Autoren sprechen dem Epithel des Gingival-sulcus eine spezifisch sezernierende Wirkung zu. Der ständige Sekretstrom bewirkt eine Reinigung der Zahnfleischtaschen. Dabei sollen die entzündlichen Sekrete gleichzeitig die Vehikelsubstanz für das für die Mineralisation erforderliche Calcium darstellen.

2.2. Die Morphologie des Zahnsteins

2.2.1. Der supragingivale Zahnstein

Klinisch imponiert diese Art des Zahnsteins als weiß-grauer bis grün-gelber, mäßig harter Belag (Mohs'sche Härte 2-4), SCHNEIDER (1959), auf den als Prädilektionsstellen anzusehenden lingualen Kronenflächen unterer Frontzähne und den buccalen Kronenflächen oberer Molaren.

Morphologische Untersuchungen mit lichtoptischen Methoden wurden an verschieden präparierten Proben von alten ausgereiften Zahnsteinen durchgeführt. Die von nicht entkalkten Dünnschliffen (PRINZ, 1921; MATHIS, 1938; HÖHLING und WANNENMACHER, E. u. M., 1962; LENZ, SCHROEDER u. MÜHLEMANN, 1964) und entkalkten, gefärbten Schnittpräparaten (NAESLUND, 1926; BIBBY, 1935; MANDEL und LEVY, 1957; LENZ, SCHROEDER u. MÜHLEMANN, 1964) gewonnenen Erkenntnisse zeigen eine auffallende Einheitlichkeit.

Stellvertretend seien hier die Ergebnisse der jüngsten Arbeit von LENZ, SCHROEDER und MÜHLEMANN (1964) mitgeteilt: "Im nicht entkalkten Dünnschliff imponiert der supragingivale Zahnstein durch die Vielgestalt seiner Strukturen. Er scheint aus fibrillären Elementen zu bestehen, die, zu Lagen und Büscheln geschichtet, räumlich nach allen Richtungen orientiert sind. Je nachdem in welchem Winkel die Einzelelemente angeschnitten sind, lassen sie sich als Granula oder Fibrillen erkennen, die oft ineinander verflochten und von amorphen Bezirken durchbrochen zu sein scheinen. Aus dieser Anordnung ergeben sich charakteristische, irregulär verteilte strukturelle Muster. Deutlich unterscheidbar sind Rosetten, Schicht- oder Lamellenmuster, granulierte Schollen, sogenannte Wachstumslinien und opake Zonen.

Die fibrilläre Grundstruktur sowie die einzelnen Merkmale finden sich im entkalkten Schnitt wieder. Der letztere zeichnet sich dadurch aus, daß sich oberflächlich eine noch unverkalkte, vitale Plaqueschicht stets deutlich abhebt. Diese Schicht, durch eine verstärkt angefärbte Wachstumslinie vom verkalkt gewesenen Anteil des Zahnsteins getrennt, spiegelt die jüngste, neu aufgelagerte Plaque-Matrix-Schicht wider. In ihr können bei starker Vergrößerung einzelne Mikroorganismen unterschieden werden. Gut sichtbar sind langfädige Organismen, die von Kokken in der Art eines Maiskolbens umwachsen zu sein scheinen. Bestimmte Mikroorganismen scheinen sich zu langen Ketten aneinanderzureihen. Im ganzen bietet diese Plaqueschicht das Bild einer fadenförmigen, palisadenartigen Struktur".

Bereits NAESLUND (1926) hat im wesentlichen die gleichen Ansichten vertreten. Er beschreibt eine Dreischichtung des Zahnsteins von außen nach innen: 1. eine äußere Schicht verschiedener Mikroorganismen ohne besondere Lagerung, 2. darunter eine einfache Schicht palisadenähnlich gestellter Leptothrixfäden und anschließend 3. mit schwach wahrnehmbarer Grenze eine Aktinomycetenschicht, die bis an die Zahnoberfläche reicht. Bisweilen wachsen Aktinomycetenfäden in die Zementschicht ein.

Die Verkalkung soll nach NAESLUND in der äußeren Leptothrixschicht beginnen.

Einen grundlegenden Unterschied im Aufbau der organischen Matrix zwischen supra- und subgingivalem Zahnstein glaubt er nicht zu erkennen.

Einen wesentlichen Impuls erhielt die Zahnsteinforschung durch die Einführung einer neuen Technik der "in vivo" Ver-

suche. In Anlehnung an Arbeiten von ZANDER (1956) zur Darstellung des inneren Saumepithels benutzten MANDEL, LEVY und WASSERMANN (1957) Zellulose-Acetat-Folien als Zahnsteinträger bei "in vivo" Versuchen. Sie befestigten entsprechend konturierte Folien auf den Lingualflächen unterer Schneidezähne und beließen diese über einen Zeitraum von 2 - 29 Tagen in den Mundhöhlen der Probanden. Die nach verschiedenen Zeitintervallen entfernten und nicht entkalkten Folien wurden lichtmikroskopisch und mit Röntgenstrahlanalysen untersucht. Diese Methode bietet die Möglichkeit, an nicht entkalkten Präparaten verschiedene Stadien der Plaquebildung und der beginnenden Mineralisation zu beobachten.

Im Verlauf ihrer Entwicklung ändert sich die bakterielle Zusammensetzung der Plaqueschicht. 3 - 5 Tage alte Beläge zeigen in einer amorphen oder fein granulierten Matrix Anhäufungen von grampositiven sowie -negativen kokkoiden Bakterien und nur gelegentlich filamentartige Formen.

Mit dem 7. Tag ändert sich das Erscheinungsbild der Plaque; die filamentartigen Bakterienformen treten an der Oberfläche sowie im Zentrum der Plaque in den Vordergrund. 12 Tage alte Beläge enthalten fast ausschließlich filamentartige Mikroorganismen. Mit dem gleichen Zeitpunkt treten die ersten Mineralisationserscheinungen auf.

Mit dem 14. Tag fällt unabhängig vom Grad der Mineralisation eine Schichtung ("lamination") der Matrix auf. Der zeitliche Beginn der Mineralisation ist individuell verschieden. MANDEL et al. beobachteten die ersten Mineralisationen bereits am 3. Tage; nach dem 14. Tag zeigten alle untersuchten Folien deutliche Verkalkungserscheinungen.

Bei einigen Präparaten trat zwischen Folienoberfläche und der Plaqueschicht eine nicht färbbare, amorphe cuticularähnliche Substanz auf.

SCHNEIDER (1959) bestätigt im wesentlichen diese Ergebnisse. Jedoch fehlt nach seinen Beobachtungen die von MANDEL et al. beschriebene Wandlung der reifenden Zahnsteinmatrix vom Kokkenbelag zum überwiegend filamentären Belag. Die Verkalkung beginnt nach SCHNEIDER in Zentren, die als Grundlage devitale Kokken- oder eventuell Filamentkolonien enthalten. Zwei Verkalkungsarten sollen danach zu unterscheiden sein: 1. die diffus granuläre Verkalkung und 2. die Verkalkung in Form von Zentren.

HAZEN und ZANDER (1959) fanden auf allen supragingival angelegten Trägerfolien nach vier Wochen deutliche Mineralisationerscheinungen. Wenn die Mineralisation einen gewissen Grad erreichte, konnten Bakterien und Zellen nicht mehr nachgewiesen werden. Hauptsächlich bestand die organische Matrix aus grampositiven Fadenbakterien und Zellen (Epithelzellen, Leuko- und Lymphocyten) in verschiedenen Graden des Zerfalls. 1960 beschreibt HAZEN ebenfalls zwei Arten der Mineralisation: 1. eine oberflächliche Form der Präzipitation und 2. Mineralisationszentren, die von einer Matrix von "vormineralisierter" Substanz umgeben sind. Die Mineralisation könnte dabei in unmittelbarer Umgebung der Bakterien stattgefunden haben.

TURESKY, RENSTRUP und GLICKMAN (1961) fanden bereits zwischen dem 2. und 6. Tag Liegedauer der Folien erste Mineralisationerscheinungen. Nach dem 8. Tag konnten bei 80% aller Probanden Verkalkungsvorgänge im Bereich der Plaque nachgewiesen werden. Mit zunehmender Mineralisation

sahen auch sie eine Veränderung der bakteriellen Zusammensetzung der Plaqueschicht im Sinne einer Zunahme der fadenförmigen Bakterien zuungunsten der kokkoiden Formen.

Näheren Einblick in das Wesen des Zahnsteins und exaktere Details der Morphologie erbrachten elektronenmikroskopische Arbeiten. Dabei stehen aufgrund der erfolgversprechenderen Methode die Untersuchungen der in "in vivo" Versuchen auf Zahnsteinträgern gezüchteten Beläge im Vordergrund.

So kann die Zahnsteinbildung nach THEILADE und SCHROEDER (1966) in drei Phasen aufgeteilt werden:

1. die Phase der primären Befestigung einer organischen Matrix auf der sauberen Zahnoberfläche oder auf Folien;
2. die Entwicklung einer Plaqueschicht und
3. die Phase der mineralisierenden Plaque.

Das primäre Befestigungsstadium wird durch eine häutchenartige Membran dargestellt, die den Zahnoberflächen oder den Folien fest anhaftet. Bereits ZANDER (1953) machte aufgrund lichtmikroskopischer Beobachtungen alten supragingivalen Zahnsteins dieses Zahnoberhäutchen unter anderem für die Befestigung der Beläge verantwortlich.

THEILADE (1964) fand auf allen angelegten Folien eine elektronendichtere cuticula in Stärke von 0,05 u bis 0,4 u zwischen Folienoberfläche und Belägen. Diese cuticula bleibt frei von zellulären und bakteriellen Elementen und kann später ebenfalls mineralisieren (SCHROEDER, LENZ, MÜHLEMANN (1964)).

Im elektronenmikroskopischen Bild besteht die Plaqueschicht überwiegend aus Mikroorganismen, die in eine elektronendurchlässige, homogen erscheinende Grundsubstanz eingelagert

sind (LENZ et al. (1964)). Mitunter können an Stellen, die während der Bildung der Beläge mit dem margo gingivae in Berührung standen, desquamiierte Epithelzellen gefunden werden (THEILADE (1964)).

Im Vergleich mit dem lichtmikroskopischen Bild fehlt die palisadenartige Struktur der Plaque (LENZ et al. (1964)).

Kokken und stäbchenförmige Bakterien werden gleichermaßen gefunden, dabei sind die länglichen Mikroorganismen häufig in Streifen geordnet, die kokkoiden Formen lagern sich dagegen in Nestern zusammen. Neben Bakterien treten Bereiche auf, die keinerlei strukturelle Gliederung aufweisen (VAHL, HÖHLING, GÜLLENSTERN und E. WANNENMACHER (1964)).

Die Dichte der Grundsubstanz nimmt vor dem Einsetzen der Mineralisation am dritten Tage der Liegedauer der Folien ständig zu. Die Bakterien erscheinen in eine fibrilläre Matrix eingebettet zu sein. Nach ZANDER et al. (1960) beginnt die Mineralisation immer in den interbakteriellen Bereichen. Erst wenn diese mineralisiert sind, werden die Mikroorganismen selbst mineralisiert.

GONZALES und SOGNAES (1960) unterscheiden zwei Arten von Mineralisationsfronten:

1. stark mineralisierte Bereiche, die abrupt enden und von einer strukturlosen Matrix von geringer Elektronendichte umgeben sind, und
2. weniger stark mineralisierte Bezirke mit diffusen Grenzen zu einer filzartigen elektronendichteren Matrix, die einige fibrilläre Elemente enthält.

Der erste Typ wird von diesen Forschern als charakteristisch für den älteren und ausgereiften Zahnstein angesehen, während die zweite Art für den jungen, wachsenden

Zahnstein steht. Die in den mineralisierten Bereichen befindlichen Bakterien zeigen verschiedene Grade der Degeneration und Mineralisation. Gleich ZANDER et al. sehen auch GONZALES und SOGNNAES die Mineralisation ihren Ausgang in den interbakteriellen Bereichen nehmen und sich dann anschließend in den Bakterien fortsetzen.

LENZ, SCHROEDER und MÜHLEMANN (1964) beschreiben ebenfalls zwei Arten der Mineralisationszentren, ohne daß diese jedoch mit den von GONZALES und SOGNNAES (1960) gemachten Beobachtungen zu vergleichen wären.

Der erste Typ zeigt ein marmoriertes, durchlöchertes Aussehen, hervorgerufen durch unterschiedlich dichte Verkalkung der Mikroorganismen. In diesen Zentren sind Kristalle unterschiedlicher Größe zu erkennen: größere Kristalle von ca. 500 bis 3.000 Å Länge und Mikrokristalle, die weit weniger als 500 Å lang sind. Alle Kristalle liegen inner- und außerhalb der Mikroorganismen wahllos verteilt, ohne daß ein geordnetes Wachstum zu erkennen wäre.

Im zweiten Zentrentyp liegt eine dichte und homogene Verkalkung vor. Die Zellgrenzen der Bakterien sind dabei fast vollkommen maskiert. Häufig treten diese Zentren in der Nachbarschaft von Mikroorganismen auf, die offensichtlich zuerst intrabakteriell verkalken, ohne daß die umgebende Grundsubstanz vorher mineralisiert worden ist. Das homogene Aussehen soll durch dichte Aneinanderlagerung verkalkter Bakterien entstehen.

Nach der Art der auftretenden Kristalle und ihrer Anordnung trennt SCHROEDER (1969) Mineralisationszentren vom Typ 'A' von denen des Typs 'B'. Beim Typ 'A' umwachsen Kristalle von 30 - 50 Å Durchmesser und weniger als 500 Å Länge ohne erkennbare Ordnung die in einer verdichteten

Grundsubstanz eingebetteten Mikroorganismen, die späterhin ebenfalls mineralisieren. Eine primäre intrabakterielle Verkalkung ist selten. Der Typ 'B' besteht aus monokristallinen Aggregaten ohne organische Matrix, weder Mikroorganismen noch eine extrazelluläre Grundsubstanz sind zu erkennen. Diese Mineralisationszentren treten immer in unmittelbarer Nachbarschaft von A-Zentren auf. Zur Umgebung besteht eine scharfe Abgrenzung. Typisch für die B-Zentren sind die säulenartigen Kristalle von hexagonalem Querschnitt mit einem Durchmesser von ca. 100 - 200 Å und einer Länge von ca. 1.000 - 2.000 Å. Sie werden als Brushit-Kristalle eingeordnet. Die vorwiegend in den A-Zentren auftretenden nadel- oder plättchenartigen Kristalle gelten als Hydroxylapatitkristalle. Außerdem beschreibt SCHROEDER große, flache Kristalle, die häufig wie Fasern oder Dachziegeln gebündelt erscheinen und durch Octacalciumphosphat gebildet werden.

HÖHLING et al. (1962) finden neben zwei Arten von Apatit-Kristallen einen dritten Kristalltyp, der von ihnen als Whitlockit klassifiziert wird. Von VAHL et al. (1964) werden die Whitlockit-Kristalle nur in älteren Zahnsteinen gefunden.

2.2.2. Der subgingivale Zahnstein

Der subgingivale Zahnstein wird als grünlich-braune bis schwarze, harte Ablagerung (SCHNEIDER (1959), Mohs'sche Härte 3-5) auf den Zahnwurzeln im Bereich chronisch entzündlicher Zahnfleischtaschen beschrieben. Im Vergleich mit den supragingivalen Ablagerungen benötigt der subgingivale Zahnstein eine längere Zeitspanne für seine Reifung. Es wird angenommen, daß er nach der Entfernung nicht so rasch wieder auftritt.

Prädilektionsstellen wie beim supragingivalen Zahnstein sind nicht festzustellen.

Die dunklere Färbung der subgingivalen Zahnsteine soll durch Einlagerung von eisenhaltigen Pigmenten aus den entzündlichen Taschensekreten entstehen (HARNDT, E. (1950)).

Nach morphologischen Charakteristiken, die GREENE (1944) bei seinen Untersuchungen von extrahierten menschlichen Zähnen fand, unterteilt er nach der Häufigkeit ihres Auftretens folgende Formen des subgingivalen Zahnsteins:

1. leistenartige Ablagerungen,
2. krustenartige und
3. furnierartige Formationen.

Zunächst soll der leistenartige Typ sich ausbilden, von hier aus wächst der Zahnstein dann krustenartig in die Tiefe vor.

EVERETT und POTTER (1959) ergänzen diese GREEN'sche Untergliederung um drei weitere Formen:

4. finger- oder farnkrautartige Ablagerungen,
 5. einzelne Inseln oder Flecken von Zahnstein und
 6. subgingivaler Zahnstein von supragingivalem überlagert.
- Kombinationen der verschiedenen Formen miteinander sind dabei nicht selten.

GREENE (1944) beschreibt zwischen dem unteren Zahnsteinrand und dem Taschenboden einen von Belägen und einstrahlenden Fasern freien Raum, den "subcalculus space". Dieser Raum variiert in seiner Tiefe zwischen 1 und 10 mm, er beträgt in der Regel jedoch 2 mm. GREENE weist ihm eine besondere Bedeutung bei der Therapie der parodontalen Taschen zu und steht damit im Widerspruch zu ORBAN (1965), der die Spalträume für präparationsbedingte Artefakte hält. Die

subgingivalen Zahnsteine sollen grundsätzlich bis zum Taschenboden reichen und einen Indikator für die Taschentiefe darstellen.

Über den Feinaufbau des subgingivalen Zahnsteins liegen nur spärliche Berichte vor. So beschreibt BRAMMER (1926) die Struktur dieser Ablagerungen anhand von histologischen Untersuchungen eines einzelnen Zahnes. Danach zeigt der Zahnstein einen schichtweisen Aufbau, wobei die einzelnen Schichten den Entstehungsetappen entsprechen sollen. Faserreiche Bezirke wechseln mit amorphen, diffus gelagerten Kalkschollen. Besonders am Rande zeigen sich zellige Elemente, die Leukocyten in mehr oder weniger starker Verkalkung darstellen. Das umgebende Granulationsgewebe enthält ebenfalls verstreute Mineralisationsinseln. Die stärksten Verkalkungserscheinungen zeigen sich in der jüngsten und daher tiefsten Schicht der Ablagerungen.

Während Bezirke auftreten, die vollkommen frei von Bakterien sind, treten die Mikroorganismen an anderer Stelle in großen Nestern auf. Der Rand des subgingivalen Zahnsteins wird von einem dichten Bakterienrasen gebildet, in dem vorwiegend Kokken, ferner Stäbchen und Leptothrixarten zu finden sind.

BOX (1942) widmet sich in seinen histologischen Studien über den subgingivalen Zahnstein weniger dem Zahnstein an sich, als vielmehr dem umgebenden Tascheninhalt. Zwischen dem Gingivaepithel und dem eigentlichen Zahnstein findet er eine Schicht organischen Materials, das sich wiederum in zwei Zonen untergliedern läßt: dem Epithel aufliegend eine zellreiche Schicht verschiedenen Ausmaßes, in der zahlreiche desquamierete Epithelzellen und Leukocyten zu erkennen sind. Die Zellen befinden sich in verschiedenen

Graden des Zerfalls. Gelegentlich treten einige Erythrocyten auf. Zwischen dieser zellreichen Schicht und dem subgingivalen Zahnstein liegt eine Zone, die von einer homogenen, gelegentlich fein granulierten Matrix gebildet wird. BOX sieht darin Restprodukte der zerfallenen Zellen und glaubt, hier die eigentliche Matrix für die subgingivale Zahnsteinbildung zu erkennen. In der homogenen Schicht befinden sich zahlreiche Nester fadenförmiger Mikroorganismen, in deren Umgebung die ersten Verkalkungserscheinungen auftreten.

NAESLUND (1926), der sich in seinen Arbeiten vor allen Dingen mit der Bakteriologie der Zahnsteine befaßte, fand, wie schon erwähnt, keinen grundlegenden Unterschied zwischen dem Aufbau des supra- und subgingivalen Zahnsteins. Für ihn stellten sich beide Arten in mikroskopischer Hinsicht identisch aufgebaut dar. In der äußersten Schicht des subgingivalen Zahnsteins sollen jedoch der Alveolarpyorrhoe spezifische Bakterien, Spirochaeten und Amöben, auftreten. Außerdem enthält diese Zahnsteinart Detritus und Zellen verschiedener Art.

Ergebnisse über elektronenmikroskopische Untersuchungen des subgingivalen Zahnsteins werden nur in einer Arbeit von HÖHLING und GÜLLENSTERN (1962) mitgeteilt. Die Autoren beschreiben den subgingivalen Zahnstein als in morphologischer Hinsicht der supragingivalen Art ähnelnd. Wie diese, so zeigt auch die subgingivale Abart einen unregelmäßigen, teilweise schichtartigen Aufbau; dabei wechseln hellere Schichten mit dunkleren. Die lichtmikroskopisch helleren Partien entsprechen im elektronenmikroskopischen Bild den Stellen, an denen Mikroorganismen als organische

Matrix mineralisiert wurden. In den dunkleren Schichten fallen dichte Lagen von Kristalliten auf, die aufgrund von Elektronenfeinbereichsbeugungs-Untersuchungen als Apatit- und Whitlockit-Kristalle eingeordnet werden. Diese kristallinen Bereiche treten im subgingivalen Zahnstein häufiger auf als im supragingivalen und sollen somit für die größere Härte des ersteren verantwortlich sein.

Über "in vivo" Versuche mit Zahnsteinträgern (Folien), wie sie zur Erforschung des jungen supragingivalen Zahnsteins gemacht worden sind, ist in der Literatur im Zusammenhang mit dem subgingivalen Zahnstein keine Mitteilung zu finden.

2.3. Die Chemie des Zahnsteins

2.3.1. Organische Fraktion

Der Gehalt an organischen Bestandteilen im Zahnstein ist unterschiedlich hoch und schwankt zwischen Werten von 16% - 28% des Trockengewichts (LITTLE, CASCIANI und LENSKY (1961)). Dabei gelten die niedrigeren Werte für den subgingivalen Zahnstein, für den GLOCK und MURRAY (1938) einen Gehalt von 17% an organischer Substanz angeben.

Nimmt man den Verlust an Trockengewicht bei Veraschung als Maß für den organischen Anteil der Zahnsteine, so ergeben sich für den supragingivalen Zahnstein Werte von 19% (MATHIS (1938)) und 11% - 37% (LITTLE, CASCIANI und ROWLEY (1963)). Für den subgingivalen Zahnstein, den LITTLE und HAZEN (1964) in marginalen und tiefen subgingivalen unterteilen, geben diese Forscher Veraschungsverluste von 29,4% (marginaler) und 20,6% (tiefer) an. Auffallend ist hier der höhere organische Anteil des marginalen subgingivalen Zahnsteins im Vergleich zum supragingivalen Zahnstein (24% Veraschungsverlust).

In der organischen Matrix des supragingivalen Zahnsteins finden LITTLE et al. (1961) 12% - 20% Kohlehydrate und 36% - 40% Stickstoffverbindungen und können 21 Aminosäuren und 7 Zucker nachweisen. Die Kohlehydrate unterteilen sich in 6% Hexosen, 4% Fukosen und 2% Hexosamine (HAMPAR, MANDEL und ELLISON (1961)).

GLOCK und MURRAY (1938), die ausschließlich subgingivalen Zahnstein untersuchten, geben einen Proteingehalt von 8,34% an. Die Proteine sollen als Keratin, Mucin und Nucleoprote-

ide oder Nucleoproteinsäuren vorliegen. Außerdem identifizieren sie 2,7% der organischen Fraktion als Fette.

MANDEL und LEVY (1957) geben für den supragingivalen Zahnstein einen Fettgehalt von 0,19% an, darunter neutrale Fette, freie Fettsäuren, Cholesterol, Cholesterolester und Phosphorlipide. Die Kohlehydratfraktion liegt wahrscheinlich als Kohlehydrat-Protein-Komplex vor. Daraus werden die Kohlehydrate erst durch Säurehydrolyse freigesetzt (MANDEL und LEVY (1957)). Die Komplexverbindungen werden als Glycoproteine, Mucoproteine, Mucoide und Mucin angegeben. Aufgrund histo-chemischer Untersuchungen vermuten MANDEL und LEVY (1957), daß ein Teil der Kohlehydrate als saure Mucopolysaccharide vorliegen.

2.3.2. Anorganische Fraktion und Mineralogie

Der Anteil des anorganischen Materials im supragingivalen Zahnstein wächst mit steigendem Alter der Proben während der ersten 14 Tage annähernd linear an (SCHROEDER (1963)). 2 - 3 Tage alter Zahnstein von unteren Frontzähnen hat einen anorganischen Gehalt von ca. 40%, der in weiteren 14 Tagen auf einen Wert von 65% - 89% ansteigt (LITTLE, CASCIANI und ROWLEY (1963)). Der Gehalt an Ca und P als Maß für die fortschreitende Mineralisation schwankt dabei zwischen 26% - 32% (Ca) und 14% - 17% (P). Der Na - Anteil liegt bei 4% im gering verkalkten supragingivalen Zahnstein und 2% in stark mineralisierten Zahnsteinen. Es ergibt sich ein Ca : P Verhältnis von 1,8 (LITTLE, CASCIANI und ROWLEY (1963)).

Auffallend ist außerdem der weitaus höhere Mineralgehalt des supragingivalen Zahnsteins von den buccalen Flächen oberer Molaren im Vergleich zu dem der lingualen Flächen unterer Frontzähne.

Ebenso schwankend ist der Mineralgehalt des subgingivalen Zahnsteins. Nach GLOCK und MURRAY (1938) liegt der anorganische Anteil bei 82,9% und wird zu 79,7% aus Calcium- und Magnesium-Phosphaten und zu 3,2% aus Calcium-Carbonat gebildet. Spektralanalysen zeigen außerdem geringe Mengen von Cu, Ag, Na, Sn, Pb, Zn, Al, Ba, Si, Sr und Spuren von Cr. Im subgingivalen Zahnstein sind Cl, Ba, Cu, Na und Sr in größerer Menge vorhanden als im supragingivalen Zahnstein. Umgekehrt enthält der supragingivale Zahnstein mehr Mn. Für Na und Sr besteht ein signifikantes Übergewicht im subgingivalen Zahnstein, besonders wenn Proben ein und desselben Zahnes verglichen werden (LUNDBERG, SÖREMARK und THILANDER (1966)). Der höhere Sr-Gehalt soll nach Ansicht dieser Forscher auf eine stärkere Ca - Konzentration im subgingivalen Zahnstein hinweisen.

LITTLE und HAZEN (1964) unterteilen den subgingivalen Zahnstein in marginalen, durch Scalen gewonnenen und tiefen, durch Gingivektomie gewonnenen und finden auch hier unterschiedliche Mineralgehalte. Tiefer subgingivaler Zahnstein hat einen konstant hohen Mineralgehalt mit einem Ca : P Verhältnis von 2,04. Das Ca : P Verhältnis liegt im marginalen, subgingivalen Zahnstein bei 1,89. Na ist im marginalen Zahnstein zu 1,87% und im tiefen Zahnstein zu 3,11% enthalten, d.h. je stärker der Mineralisationsgrad, desto höher liegt die Na - Konzentration. Die Zusammensetzung des subgingivalen Zahnsteins ist außerdem von seiner Lokalisation in der Mundhöhle abhängig. So zeigt der Zahnstein oberer Molaren einen geringeren Mineralisationsgrad als der unterer Frontzähne.

Mehr als zwei Drittel des anorganischen Materials liegt in kristalliner Form vor (LEUNG und JENSEN (1958)). Der Analyse der Kristallarten ist eine große Anzahl von Arbeiten gewidmet (MATHIS (1938), GLOCK und MURRAY (1938), MANDEL, LEVY und WASSERMANN (1957), JENSEN und DANØ (1954), LEUNG und JENSEN (1958) u.a.).

Nach übereinstimmenden Berichten werden folgende Minerale mehr oder weniger regelmäßig gefunden: Apatit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, Brushit $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Magnesium-Whitlockit $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6\text{xPO}_4$ ($\text{x} = \text{Mg}^{2+}$ oder Fe^{2+}) und Octacalciumphosphat $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Gewöhnlich finden sich zwei und mehr Kristalltypen in einem Zahnstein, wobei Apatit und Octacalciumphosphat die häufigsten sind. Brushit ist entscheidend weicher (Mohs'sche Härte 2) als Apatit und Whitlockit (Mohs'sche Härte 5). Apatit tritt mit gleicher Regelmäßigkeit in supra- wie subgingivalen Zahnsteinen auf, während Whitlockit vorzugsweise im subgingivalen Zahnstein anzutreffen ist. Die weicheren Brushit und Octacalciumphosphat treten nebst Apatit gehäuft im supragingivalen Zahnstein auf (ROWLES (1964)). Es kann dies eine Erklärung für die größere Dichte und Härte der subgingivalen Zahnsteine sein.

Wie Untersuchungen von Zahnsteinproben verschiedenen Alters zeigen, ist das Auftreten der einzelnen Minerale vom Entwicklungsgrad des Zahnsteins abhängig (SCHROEDER und BAMBAUER (1966), ROWLES (1964)). In 3 Tage alten Plaqueschichten wird zunächst nur Brushit gefunden. In geringem Abstand (3 - 14 Tage) danach tritt Octacalciumphosphat auf, während Whitlockit jedoch nicht vor dem 12. Monat nachzuweisen ist. Über das zeitliche Auftreten von Apatit besteht keine einheitliche Auffassung. Während SCHROEDER und BAMBAUER (1966) aufgrund von Röntgenstrahlanalysen in jungem supragingiva-

len Zahnstein kein Apatit nachweisen konnten, fanden andere Autoren bei Elektronenbeugungsuntersuchungen, daß Apatit und Octacalciumphosphat die Hauptmasse der Kristalle ausmachten (ZANDER, HAZEN und SCOTT (1960), GONZALES und SOGNAES (1960), THEILADE (1960), VAHL, HÖHLING, GÜLLENSTERN und E. WANNENMACHER (1964), SCHROEDER (1964)).

Nach NEWSELY (1968) besteht die Möglichkeit, daß Hydroxylapatit nicht primär gebildet wird, sondern erst durch rasche Hydrolyse aus Octacalciumphosphat entsteht. Ebenso soll zunächst gebildetes Brushit in Octacalciumphosphat oder, bei Anwesenheit von Magnesiumionen, in Whitlockit umgewandelt werden.

2.4. Die Rolle der Mikroorganismen

Das regelmäßige Auftreten einer großen Anzahl von Mikroorganismen in den Zahnsteinen war Anlaß, die Rolle der Bakterien bei der Zahnsteinbildung zu erörtern.

NAESLUND (1925, 1926) glaubt in den Aktinomyceten und Leptothrixfilamenten die entscheidende Ursache für die Verkalkungsvorgänge in der Plaquematrix zu sehen. Diese Bakterienarten sollen bei ihrem Wachstum biochemische Prozesse in Gang setzen, die zu einer Senkung der Wasserstoffionenkonzentration des Speichels und des Exsudats der parodontalen Tasche führen und damit eine Präzipitation der gelösten Kalksalze bewirken. Neben der Alkalisierung tritt gleichzeitig eine Kolloidkondensierung der Proteine auf, wodurch die Kalksalze, ihres kolloidalen Schutzes beraubt, ebenfalls zur Präzipitation gebracht werden.

Unterstützung fanden NAESLUND's Ansichten durch die Entdeckung, daß Enzyme, besonders Phosphatasen, die von *Actinomyces israelii* gebildet werden, zur Bildung von Calciumphosphaten führen (ENNEVER und WARNER (1952), GLOCK, MURRAY und PINCUS (1938)). ENNEVER (1960) und auch TAKAZOE (1961) konnten zeigen, daß *Bacterionema matruchotii* intrazelluläres Hydroxylapatit zu bilden vermögen. Da diese Bakterienart jedoch weniger als 0,1% der Mikroorganismen in der dentalen Plaque darstellen, kann ihre aktive Beteiligung an der Mineralisation sicher als unerheblich betrachtet werden.

BARTELS (1950, 1951) ist der Auffassung, daß Aktinomyceten Ammoniak freisetzen, das mit Magnesium- und Phosphationen zu einem Präzipitat ausfällt. Außerdem fand er einige weitere Bakterienarten, die zur Bildung von Calciumcarbonat in

der Lage sein sollen. Doch wird nach neueren Untersuchungen weder Ammonium-magnesium-phosphat noch Calciumcarbonat in den Zahnsteinen gefunden.

Inwieweit Mikroorganismen eine aktive Rolle bei Mineralisationsvorgängen spielen, ist bis heute noch nicht endgültig geklärt.

So konnten WASSERMANN, MANDEL und LEVY (1958) bei "in vitro" Versuchen zeigen, daß sowohl vitale als auch devitalisierte Mikroorganismen (durch 10%ige Formalinlösung) mineralisiert werden. Autoklavierte Streptokokken wurden nach Einbringung in den Peritonealraum von Ratten sogar schneller mineralisiert als vitale Streptokokken (RIZZO, SCOTT und BLADEN (1963)). Diese Forscher halten einen gewissen Anteil an devitalen Mikroorganismen für das Einsetzen einer Mineralisation für erforderlich. Jedoch steht dies im Widerspruch zu den Beobachtungen, daß die Kristallisation in der dentalen Plaque in der Regel zunächst interbakteriell beginnt und erst später auf die Bakterien selbst übergreift (GONZALES und SOGNAES (1960), ZANDER, HAZEN und SCOTT (1960), LENZ, SCHROEDER und MÜHLEMANN (1964) u.a.).

Weiterhin konnte gezeigt werden, daß eine Zahnsteinbildung auch ohne die Anwesenheit von Bakterien (vitalen und devitalen) möglich ist. Unter sterilen Bedingungen aufgezogene Ratten zeigten den gleichen Grad an Zahnsteinbefall wie normal gefütterte Tiere (GUSTAFFSON und KRASSE (1962), GLAS und KRASSE (1962)).

SCHROEDER (1969) faßt die Rolle der Mikroorganismen bei der Zahnsteinbildung im Menschen wie folgt zusammen:

1. "Zur Zeit gibt es keine Anzeichen dafür, daß Mikroorganismen einen entscheidenden Einfluß darauf haben, ob ein Individuum Zahnstein bildet oder nicht.
2. Es scheint, daß Mikroorganismen keine spezifische Relevanz für die Kristallkeimbildung haben.
3. Nur mit geringer Wahrscheinlichkeit sind die Bakterien für die Haftung der Zahnsteine auf den Zahnflächen verantwortlich.
4. Die Rolle der Bakterien besteht in der Bereitstellung einer organischen Matrix für die spätere Mineralisation. Somit tragen sie zu der unterschiedlich ausgeprägten Zahnsteinbildung bei.
5. Der bakterielle Stoffwechsel kann die Mineralisation der Plaque beeinflussen und so den Mineralisationsgrad des ausgebildeten Zahnsteins bestimmen.
6. Es tritt auch eine nichtbakterielle Matrix auf, die mineralisiert werden kann. Ihr Endprodukt ähnelt dem der bakteriellen Matrix".

2.5. Haftmechanismen des Zahnsteins

In älteren Publikationen werden Aktinomyceten- und Leptothrixvegetationen für die Haftung sowohl der supra- wie auch der subgingivalen Zahnsteine verantwortlich gemacht. Diese Mikroorganismen sollen wie ein Netzwerk verflochten in die Zementschicht der Zahnwurzeln einwachsen und somit die Matrix für spätere Mineralisationsabläufe bilden (NAESLUND (1926), BIBBY (1935)).

ZANDER (1953) unterscheidet aufgrund lichtmikroskopischer Untersuchungen an altem ausgereiften Zahnstein vier Arten der Zahnsteinbefestigung:

1. Haftung durch das sekundäre Zahnoberhäutchen.
2. Haftung in den mikroskopischen Unregelmäßigkeiten der Zementoberfläche. Hier ist das Zahnoberhäutchen zerstört.
3. Haftung durch Eindringen der Bakterien in die Zementschicht, die sie zur Zahnsteinmatrix machen. Die Mikroorganismen sollen dabei bis an die Dentin-Zementgrenze und entlang dieser vordringen.
4. Haftung in Resorptionshöhlen der Zementschicht. Hier haftet der Zahnstein mechanisch durch Unterwanderung von Unterschnitten im Zement.

Kombinationen verschiedener Befestigungsarten sind die Regel. Dabei sollen Typ 3 und 4 am häufigsten auftreten. MANDEL und LEVY (1957) bestätigen im wesentlichen ZANDERS Beobachtungen.

KOPCZYK und CONROY (1968) untersuchten die Zahnsteinbefestigung an 63 Zähnen, die sie sorgfältig säuberten und glätteten und anschließend für weitere 1,5 bis 4,5 Monate in situ beließen. Nach Entfernen der Zähne und histologischer Aufbereitung zeigte es sich, daß die Haftungen mittels einer Cuticula und durch direktes Anhaften der Mikroorganismen die häufigsten waren.

Den neueren Untersuchungen folgend, besteht heute jedoch kein Zweifel darüber, daß die Cuticula dentis als erstes Abscheidungsprodukt auf den freien Zahnoberflächen anzusehen ist. Sie bildet das Medium für die Haftung der dentalen Plaque als zahnsteinbildende Matrix (MANDEL und LEVY (1957), ZANDER (1953)).

Die gleiche Cuticula wird auch bei "in vivo" Versuchen auf Trägerfolien gefunden (MANDEL, LEVY und WASSERMANN (1957), HAZEN und ZANDER (1959), TURESKY, RENSTRUP und GLICKMAN (1961), THEILADE (1964), SCHROEDER, LENZ und MÜHLEMANN (1964), THEILADE und SCHROEDER (1966)). Im elektronenmikroskopischen Bild erscheint sie als elektronen-dichtere zellfreie Membran mit einer Dicke von 0,05 bis 0,4 μ (THEILADE (1964)). Die zunächst homogene und strukturlose Membran kann späterhin von Mikroorganismen durchwachsen und mineralisiert werden (LENZ (1970)).

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Untersuchungen des reifen subgingivalen Zahnsteins

3.1.1. Material

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen des reifen subgingivalen Zahnsteins wurden Zähne ausgewählt, die

- a) pathologische Zahnfleischtaschen aufwiesen und
- b) bereits bei klinischer Inspektion im subgingivalen Bereich Zahnsteinansatz erkennen ließen. Vor der Luxation der Zähne wurde die Taschentiefe gemessen und der freie Gingivarand am Zahn markiert.

Die Auswahl enthielt ein- und mehrwurzelige Zähne aus allen Bereichen der Mundhöhle von Patienten beiderlei Geschlechts. Das Alter der Patienten lag zwischen dem 40. und 84. Lebensjahr.

Bei einem Zahn handelte es sich um einen retinierten, nach palatinal verlagerten oberen caninus mit zystisch erweitertem und infiziertem Pericoronarraum. Der Zahn war zwar nicht durchgebrochen, jedoch bestand durch einen dünnen Fistelgang Verbindung zur Mundhöhle. Intra operationem zeigte es sich, daß die Zahnkrone fast vollständig und die Zahnwurzel teilweise von besonders hartem, dunkelbraun bis schwarzem Zahnstein inkrustiert waren.

3.1.2. Methode

Die, um ein Absprengen der Zahnsteinbeläge zu vermeiden, möglichst schonend entfernten Zähne wurden unmittelbar nach Extraktion für mindestens 6 Stunden in 5%igem, auf pH 7,2 -

7,4 phosphatgepuffertem Glutaraldehyd bei 6°C im Kühl-schrank aufbewahrt. Anschließend wurden die Präparate mit physiologischer NaCl-Lösung ausgewaschen und für weitere 18 Stunden in ein Phosphatpuffergemisch von pH 7,2 - 7,4 gegeben. Nach einer Nachfixierung in veronalacetatgepufferter, isotonischer OsO₄-Lösung von pH 7,2 und einem Auswaschen mit physiologischer NaCl-Lösung erfolgte die Entwässerung in aufsteigender Alkoholreihe:

- 5 min in 50%igem Alkohol
- 5 min in 75%igem Alkohol
- 5 min in 95%igem Alkohol
- 2 x 10 min in absolutem Alkohol

Die so entwässerten Präparate wurden nun 1 x 30 min und 2 x 30 min mit Styrol überspült und weiter für 1 Stunde in Mikropal/Styrol im Verhältnis 1 : 1 (+ Katalysator + Aktivator) überführt. Anschließend wurden sie für weitere 24 Stunden in reinem Mikropal (+Katalysator + Aktivator) bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Danach wurden die Präparate in Eiswürfelkästchen eingebracht, diese mit Mikropal (+ Katalysator + Aktivator) aufgefüllt und die Luft evakuiert, um die Bildung von Blasen zu vermeiden. Anschließend wurde im Trockenschrank bei 60°C über 12 - 36 Stunden polymerisiert. Nach beendeter Polymerisation wurden die unentkalkten Zähne im Mikropalblock mit Hilfe einer Schneidemaschine (Firma Dr. STEEG & REUTER) parallel zur Zahnlongsachse in 0,6 mm dicke Scheiben geschnitten. Diese Dünnschnitte wurden paßgerecht für Gelatine kapseln zurechtgeschnitten, in diesen aufgestellt und in Mikropal (+ Katalysator + Aktivator) wiederum bei 60°C im Trockenschrank über 12 - 36 Stunden einpolymerisiert.

Nach Entfernen der Gelantinekapseln erfolgte die Anspitzung der Präparate in den gewünschten Bereichen, entweder an der Zement-Zahnstein-Grenze, im Zahnstein selbst oder am Übergang vom Zahnstein zum Inhalt der umgebenden Zahnfleischtasche. Dies geschah mit Hilfe von maschinell getriebenen feinen zahnärztlichen Finierern unter dem Binkularlupen-Präpariermikroskop (Firma BAUSCH & LOMB). Die für die elektronenmikroskopische Untersuchung interessierenden Objektstellen mußten dabei an der Spitze einer stumpfwinkligen vierseitigen Pyramide liegen.

Von diesen Präparaten wurden anschließend an einem LKB - Ultratome Type 4801 mit Diamantmessern Ultradünnschnitte von ca. 800 Å Stärke hergestellt und diese auf formvariablem Kupfernetzen aufgefangen.

Die elektronenmikroskopische Untersuchung erfolgte an einem ELMISKOP I A der Firma SIEMENS & HALSKE bei einer Strahlspannung von 80 kV.

3.2. Untersuchung des auf Folien aufgewachsenen subgingivalen Zahnsteins

3.2.1. Material

Für diese Versuche wurden aus dem reichhaltigen Patientengut der Abteilung für Parodontologie unserer Klinik drei Probanden ausgewählt:

1. Fall: Eine 32jährige Patientin, Hausfrau

Generalisierte Taschenbildung von 5 - 7 mm Tiefe
Lockerungsgrad II - III
aus den Taschen purulente Sekrete;
supra- und subgingivaler Zahnsteinansatz

Folien angelegt an:

41 distal	Tragezeit 7 Tage
31 distal	Tragezeit 14 Tage
32 mesial	Tragezeit 21 Tage

2. Fall: Eine 43jährige Patientin, Hausfrau

Taschenbildungen besonders im Frontzahngebiet
des Oberkiefers von 7 - 9 mm Tiefe
Lockerungsgrad II - III
aus den Taschen seröses Sekret
subgingivaler Zahnsteinansatz
Folien angelegt an:

13 mesial	Tragezeit 7 Tage
23 palatinal	Tragezeit 7 Tage

3. Fall: Ein 56jähriger Patient, Angestellter

Taschenbildung besonders im Frontzahngebiet
des Unterkiefers von 5 - 7 mm Tiefe
Lockerungsgrad II
aus den Taschen seröses Sekret
subgingivaler Zahnsteinansatz
Folien angelegt an:

42 distal	Tragezeit 7 Tage
43 mesial	Tragezeit 7 Tage

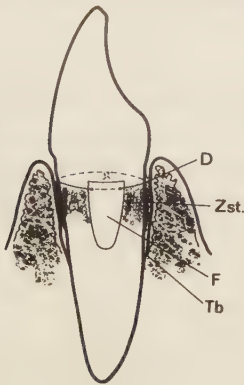
Bei der Auswahl der Probanden wurde darauf geachtet, daß
Zahnfleischtaschen ausreichender Tiefe vorhanden waren, um
Folien genügender Größe in ihnen zu befestigen. Weiter soll-
te im subgingivalen Bereich bereits Zahnsteinansatz beste-

hen, da nur in diesen Fällen mit weiterer Bildung von subgingivalem Zahnstein zu rechnen war. Erfahrungsgemäß gibt es Patienten, bei denen über einen langen Zeitraum hinweg Zahnfleischtaschen bestehen, ohne daß es zur Bildung von Zahnstein in diesen Bereichen kommt (ORBAN (1965), HARNDT, E. (1950)).

3.2.2. Methode

Aus einer Cellulose-Acetobutyrat-Folie (Triafol^R/BAYER BN 0,1 mm Dicke) wurden parabelförmige Streifen einer Länge von 5 - 6 mm und einer Basisbreite von 2 - 3 mm geschnitten und basisnah mit Hilfe einer Cofferdam-Lochzange mit zwei Löchern versehen, durch die ein gezwirnter Suturdraht der Stärke 0,08 mm geführt wurde. Die Folien wurden auf den Approximalflächen der Zahnwurzeln so fixiert, daß ihre rauheren Flächen vom Zahn weg, d.h. zum Tascheninnern hin orientiert waren. Der Befestigungsdraht wurde mit einer Ligaturenzange zusammengedreht und im Approximalraum der Gegenseite versteckt.

Beim Einbringen der Folien in die Zahnfleischtaschen wurde sorgfältig darauf geachtet, daß keine Blutungen auftraten und daß die Folien vollständig unter der Gingiva verschwanden, um so zu gewährleisten, daß alle Ablagerungen auf den Trägerfolien aus dem subgingivalen Bereich entstammten (siehe dazu Schemazeichnung).



- D = Drahtligatur
- Zst = alter subgingivaler Zahnstein
- F = Folie
- Tb = Taschenboden

Die Probanden wurden angewiesen, ihre normale Mundhygiene beizubehalten. Die Liegedauer der Folien betrug in der Regel 7 Tage und ist im einzelnen der Zusammenstellung auf Seite 31 zu entnehmen.

Die weitere Behandlung der Folien nach Entnahme aus der Mundhöhle erfolgte wie unter 3.1.2. bereits beschrieben. Hinzuzufügen ist, daß die Folien vor dem Einbetten in die Gelatine kapsel in ihrer Längsachse halbiert wurden, um so ein größeres Untersuchungsmaterial zu erhalten. Ein Zerlegen in mehrere Schnitte entfiel, um bei der geringen Größe der Objekte keinen zu großen Verschnitt zu erhalten.

Die elektronenmikroskopische Untersuchung erfolgte wiederum am ELMISKOP I A der Firma SIEMENS & HALSKE bei einer Strahlspannung von 80 kV.

4. E R G E B N I S S E

4.1. Der reife subgingivale Zahnstein

Das elektronenmikroskopische Bild von nicht entkalkten Schnitten des reifen subgingivalen Zahnsteins zeigt bereits bei geringer Vergrößerung eine Vielzahl von Strukturen. Auf Schnitten über mehrere Mikrobereiche fällt eine gewisse Schichtung der Ablagerungen auf (Abb. 1).

Abschnitte von dichtem, relativ homogen erscheinendem, mineralisiertem Material wechseln mit Bereichen, in denen eine aufgelockerte, zum Teil durch Bakterien bestimmte Struktur vorherrscht. Hier macht der Zahnstein einen weniger kompakten Eindruck.

Bei einigen Präparaten scheint die Schichtung durch unterschiedliche Kristallarten bzw. deren Anordnung bedingt zu sein (Abb. 2).

Unter den Bakterien überwiegen die kokkoiden Formen. Vereinzelt sind fadenförmige Mikroorganismen zu erkennen (Abb. 3 und 4). Inwieweit es sich bei den runden Formen um Anschnitte länglicher Gebilde handelt, ist nicht zu entscheiden. Die Auswertung von mehreren aufeinanderfolgenden Schnitten läßt jedoch den Schluß zu, daß es sich in der Mehrzahl um Kokken und stäbchenförmige und nicht, wie in der Literatur beschrieben, vorwiegend um fadenförmige Mikroorganismen handelt.

Die Bakterien zeigen unterschiedliche Grade der Mineralisation. Neben vollständig mit Kristallen ausgefüllten Zellen treten Bakterien auf, bei denen nur die Zellmembranen Kristalle enthalten. Die mineralisierten Bakterienmembranen weisen häufig eine Dreischichtung auf (Abb. 3 und 6).

Feinste nadelartige Kristalle sind der äußeren Bakterienmembran tangential angelagert. Darauf folgt ein sehr schmaler Saum, der frei von Kristallen ist. Diesem schließt sich eine weitere Schicht feinsten Kristalle an, die wiederum tangential der inneren Zellmembran anliegen. Die gerichtete Kristallanordnung geht im Innern der Bakterien verloren; hier liegen die einzelnen Kristalle ungeordnet, knäuelartig durcheinander und sind in der Regel größer als die Kristalle der Zellmembranen.

Abb. 3 zeigt einige Mikroorganismen, bei denen offenbar ein anderer als der eben beschriebene Mineralisationsmodus vorgelegen hat. Statt tangentialer Ausrichtung an den Zellmembranen, scheinen hier die Kristalle senkrecht zur Oberfläche geordnet zu sein. Die Kristalllänge beträgt in dieser Schicht ca. $1.300 \text{ \AA}$. Im Innern der Bakterien geht die Ausrichtung wiederum verloren. Gleiche Kristallisationsmuster der Bakterien zeigen auch Bilder von subgingivalen Zahnsteinen anderer Patienten (Abb. 7). Insgesamt gesehen überwiegen jedoch die Bilder der dreischichtigen Mineralisation der Bakterien.

Zum Teil sind die Mikroorganismen so stark mit Kristallen durchsetzt, daß eine exakte Abgrenzung zur Umgebung schwerfällt (Abb. 3 und 4).

Zu welchem Zeitpunkt und in welcher Reihenfolge die Mineralisation der Bakterien einsetzte, ist aufgrund der Beobachtung elektronenmikroskopischer Bilder des reifen Zahnsteines nicht zu entscheiden.

Dort, wo die Bakterien zu größeren Nestern zusammengeballt liegen, scheint die ordnende Kraft der Bakterienmembran bis in die interbakteriellen Bereiche hineinzuwirken. Die

Kristalle sind hier vorzugsweise parallel zu den Zellumrissen ausgerichtet (Abb. 4 und 5). Es handelt sich um sehr feine nadelartige Kristalle von ca. 250 Å Länge, die in diesen Bereichen die interbakteriellen Bezirke fast vollständig ausfüllen.

Das Bild des subgingivalen Zahnsteins wird hier durch die unterschiedlichen Mineralisationsgrade der Mikroorganismen bestimmt. Sind diese gar nicht oder nur unvollkommen mineralisiert, so ergibt sich eine aufgelockerte, siebartige Struktur (Abb. 1, 5 und 6).

In anderen Bezirken, in denen die Bakterien ebenfalls vollständig von Kristallen durchsetzt sind, macht der Zahnstein einen sehr kompakten und homogenen Eindruck (Abb. 1, 2 und 4).

Einen vollkommen andersartigen Aufbau des subgingivalen Zahnsteins vermitteln die Abbildungen 8 - 14. Hier wird die Struktur vor allem durch das Auftreten sehr großer Kristalle bestimmt, die länglich-ovale Gebilde umwachsen.

Wenn in der Übersichtsvergrößerung (Abb. 8) diese kristallfreien Bereiche einen leeren Eindruck machen, und an präparationsbedingte Artefakte denken lassen, so zeigen jedoch die Abbildungen 11 und 12, daß diese Räume von einer elektronendichteren, homogenen Substanz ausgefüllt sind. Aufgrund der ovalen Form könnte es sich um Mikroorganismen handeln. Da jedoch keine Zellmembranen zu erkennen sind, kann hier auch denaturiertes und zu Tropfen koaguliertes Eiweiß von Kristallen umwachsen sein. Dagegen zeigt Abb. 10, die demselben Zahnstein entstammt, das typische Bild eines mineralisierten Bakteriums.

Auf Abbildung 13 und 14 sind deutlich die einzelnen langen spießförmigen Kristalle in ihrer auffallenden parallelen Anordnung zu unterscheiden. Die Kristalllängen betragen ca. $2.500 \text{ \AA}$ - $3.300 \text{ \AA}$. Eine organische Matrix, die hier mineralisiert wurde, ist nicht zu erkennen.

Neben Zahnsteinproben, die überwiegend Bakterien als organische Matrix aufweisen, treten andere, bei denen im unentkalkten Schnitt keinerlei organisches Grundgerüst zu erkennen ist. Hier wird das Bild von dichten Kristallagen beherrscht, die eine eventuell vorhandene organische Matrix maskieren (Abb. 15, 16 und 17).

Die Kristalltypen variieren innerhalb einer Probe stark. Während stellenweise Felder eines einzigen Kristalltyps auftreten, wie z.B. in Abbildung 16 und 20 plättchenartige kurze Kristalle und in Abbildung 17 lange spießartige, sind andererseits verschiedene Kristallarten in unmittelbarer Nachbarschaft zueinander anzutreffen (Abb. 18 und 19).

Im Bereich der plättchenartigen Kristalle ist eine gewisse gleichgerichtete Orientierung festzustellen (Abb. 16). Dagegen erscheinen die längeren, spießartigen Kristalle wahllos durcheinander verflochten zu sein (Abb. 17). Diese haben eine Länge von ca. $600 \text{ \AA}$ - $2.700 \text{ \AA}$ und entsprechen den in der Literatur angegebenen Hydroxylapatitkristallen. Bei den plättchenartigen Kristallen dürfte es sich aufgrund der isodiametrischen Form bei parallelogrammartigen Umrissen um Whitlockitkristalle handeln. Inwieweit noch andere Kristallarten, wie z.B. Brushit und Octacalciumphosphat, am Aufbau des subgingivalen Zahnsteins beteiligt sind, läßt sich vom rein morphologischen Gesichtspunkt her

nicht eindeutig klären. Hier müßten röntgenographische Untersuchungen und Elektronenbeugungsdiagramme weiterhelfen.

Die Whitlockitkristalle werden in allen untersuchten Zahnsteinproben gefunden. Besonders große Bereiche dieses Minerals weist jedoch der auf einem impaktierten oberen Eckzahn mit erweitertem und infiziertem Pericoronarraum gefundene Zahnstein auf.

Schnitte an der Zement-Zahnsteingrenze zeigen, daß es auf unentkalkten Präparaten häufig schwierig ist, eine eindeutige Trennung von Zement und Zahnstein in diesem Grenzbe-
reich vorzunehmen. Aufgrund der starken Mineralisation des subgingivalen Zahnsteins, ist dieser vom Zement nur durch das Auftreten anderer Kristallarten und deren unregelmäßiger Anordnung zu unterscheiden (Abb. 21 und 22).

Teilweise liegen mineralisierte Bakterien der Zementoberfläche direkt an und erleichtern so die Identifizierung des Zahnsteins (Abb. 23).

Wie stark die Verankerung des Zahnsteins auf der Zementoberfläche ist, veranschaulicht Abbildung 24. Hier ist bei einem Versuch, den Zahnstein zu entfernen, die Haftung des Zahnsteins stärker als die Widerstandsfähigkeit des Zements gewesen. Mit dem Zahnstein ist ein Teil der Zementschicht abgerissen worden. Daß es sich nicht um einen präparatorisch bedingten Spalt handelt, beweist die Auffüllung des Spalt-
raumes mit elektronendichterem Material. Vielmehr deutet die bereits einsetzende Mineralisation in diesem Bereich darauf hin, daß dieser Zustand bereits über einen längeren Zeitraum in der Mundhöhle bestanden haben muß. Ein ähnliches Bild bietet Abbildung 25, aus der die Abbildung 23 eine Aus-

schnittsvergrößerung darstellt. Abbildung 25 zeigt den Zahnsteinansatz im Bereich eines ehemaligen kariösen Defektes. Die Bakterien sind hier tief in die Zementschicht eingedrungen. Durch die Zahnsteinbildung ist es hier zu einer Remineralisation des kariösen Defektes gekommen, was als "Ausheilung" der Zementkaries betrachtet werden kann. Abbildung 26 gibt die Überlagerung von altem subgingivalen Zahnstein durch jüngeren supragingival gebildeten Zahnstein wieder. Zwischen die beiden Zahnsteinarten ist hier eine dünne Schicht organischen, homogen erscheinenden Materials eingelagert, die frei von Bakterien ist. Die Mineralisation ist hier im Vergleich mit den tieferen Schichten des supragingivalen Zahnsteins weniger weit fortgeschritten.

4.2. Ergebnisse der "in vivo" Versuche

Trotz sorgfältiger elektronenmikroskopischer Durchmusterung der Trägerfolien, konnte nur auf einer Folie junger subgingivaler Zahnstein nachgewiesen werden. Diese Folie wurde von dem Probanden 14 Tage lang in der Mundhöhle getragen. Von demselben Probanden zeigt eine weitere Folie, die nur 7 Tage getragen wurde, ebenfalls Zahnsteinbefall. Jedoch muß es sich in diesem Fall um ein abgesprengtes und in die Zahnfleischtasche verschlepptes Zahnsteinfragment handeln, da keinerlei Anzeichen für ein Wachstum und fortschreitende Mineralisation zu finden sind (Abb. 27).

Dagegen zeigen die Abbildungen 28, 29 und 30, daß es sich hier um jungen, im Wachstum befindlichen subgingivalen Zahnstein handelt (Die Folie wurde 14 Tage getragen).

Deutlich ist das Auftreten von Kristallen in den interbakteriellen Räumen zu erkennen. Offensichtlich beginnt die Mineralisation zunächst interbakteriell. Doch muß bereits bald darauf folgend die intrabakterielle Mineralisation einsetzen. Sobald die Mikroorganismen von Kristallen eingeschlossen sind, treten die ersten Kristalle auch in den Bakterien selbst auf. Während jedoch in der ersten Schicht unterhalb der Mineralisationsfront bereits alle Mikroorganismen mineralisiert sind, befinden sich in der Tiefe noch Bakterienkörper, in denen die Bakterienkörper noch nicht mineralisiert sind (Abb. 28 und 29). In Abbildung 32 wird deutlich, daß das homogene Bild des älteren subgingivalen Zahnsteins durch die komplette Mineralisation der Bakterienkörper bewirkt wird. Zum Teil wird die Bakterienstruktur durch die dichte Kristallisation maskiert. Im Gegensatz zum alten, reifen subgingivalen Zahnstein kann in den jungen

Zahnsteinproben nur eine Kristallart ausgemacht werden. Es sind dies sehr feine nadelartige Kristalle von ca. 300 Å - 800 Å Länge, die ebenfalls als Hydroxylapatit anzusprechen sind (Abb. 30 und 31).

Neben der Züchtung von subgingivalem Zahnstein kann mit Hilfe von Trägerfolien der Inhalt parodontaler Taschen studiert werden.

Bei jeweils gleicher Tragezeit (7 Tage) zeigen sich erhebliche individuelle Unterschiede in den Folienbelägen der Probanden. Während bei zwei Probanden die Hauptmasse der Beläge aus Mikroorganismen und nur gelegentlich dazwischen eingestreuten Leukozyten gebildet wird (Abb. 33, 34 und 35), finden sich auf den Folien des dritten Probanden fast ausschließlich nur desquamiierte Epithelzellen und vereinzelte Leukozyten (Abb. 36 und 37). Dagegen fehlen hier die Mikroorganismen gänzlich.

In der Zusammensetzung der bakteriellen Flora sind ebenfalls Unterschiede festzustellen. So zeigt Abbildung 33 überwiegend kokkoide Formen, während die Folie eines anderen Patienten in der Mehrzahl längliche Mikroorganismen aufweist (Abb. 34). Die Bakterien sind in eine homogen erscheinende, strukturlose Grundsubstanz eingebettet. Die kokkoiden Formen treten gelegentlich in Nestern zusammengeballt auf (Abb. 38). Auffallend ist hier das direkte Nebeneinander von Bakterien mit stark vakuolisiertem Cytoplasma und solchen, mit vollkommen homogenem Zellinneren. Über die Gattung der Mikroorganismen kann mit Hilfe der elektronenmikroskopischen Bilder nichts ausgesagt werden.

Die Folienoberfläche wird teilweise von einer elektronendichteren bis ca. 4.000 Å dicken Cuticula bedeckt. Diese ist in sich homogen und ohne strukturelle Zeichnung (Abb. 39).

An anderen Stellen liegen die Mikroorganismen der Folie direkt auf (Abb. 40). Ebenso ist auch zwischen den abgeschilferten Epithelzellen und der Folienoberfläche keine cuticulare Struktur zu erkennen (Abb. 36).

A B B I L D U N G E N

OV = Originalvergrößerung

Abb. 1: Alter subgingivaler Zahnstein im elektronenmikroskopischen Bild. Auffallend ist der Wechsel von dicht mineralisierten Bereichen mit aufgelockerten Abschnitten, in denen Mikroorganismen vorherrschen.

OV = 8.000 : 1

Abb. 2: Schichtartiger Aufbau des subgingivalen Zahnsteins, bedingt durch unterschiedliche Mineralisation der organischen Matrix. Neben dichten Kristallagen treten Bezirke auf, in denen lange Kristalle größere unmineralisierte Räume organischer Substanz umwachsen.

OV = 10.000 : 1

Abb. 3: Mineralisierte Mikroorganismen im subgingivalen Zahnstein. Vorherrschend sind kokkoide Formen. Zwei Arten der Mineralisation der Bakterien sind zu beobachten.

A: Die Bakterienmembran wird durch eine dickere Lage von Kristallen maskiert.

B: Deutlich ist eine Dreischichtung der Bakterienmembranen zu erkennen.

OV = 15.000 : 1

Abb. 4: Kompakter, dicht mineralisierter subgingivaler Zahnstein mit eingeschlossenen Mikroorganismen, die sich nur unscharf von der Umgebung abheben.

OV = 9.000 : 1

- Abb. 5: Ansammlung von Mikroorganismen unterschiedlichen Mineralisationsgrades neben bakterienfreien Bereichen. Die Kristalllänge beträgt ca. 250 Å.
OV = 15.000 : 1
- Abb. 6: Deutliche Dreischichtung der Bakterienmembranen. Die Kristalle sind tangential zur Bakterienoberfläche ausgerichtet. Die ordnende Kraft der Bakterienmembran wirkt bis in die interbakteriellen Bereiche.
OV = 30.000 : 1
- Abb. 7: Mineralisierte Mikroorganismen mit senkrecht zur Oberfläche ausgerichteten Kristallen in der Zellwand. Neben nadelartigen Kristallen treten plättchenartige Kristalle auf, bei denen es sich wahrscheinlich um Whitlockit-Kristalle handelt.
OV = 20.000 : 1
- Abb. 8: Übersichtsbild aus einem alten subgingivalen Zahnstein. Stark aufgelockerte Struktur mit sehr langen, parallel gelagerten Kristallen.
OV = 3.000 : 1
- Abb. 9: Neben sehr langen, spießförmigen Kristallen treten plättchenartige Kristalle auf.
OV = 10.000 : 1
- Abb. 10: Eindeutig als mineralisierte Mikroorganismen zu identifizierende ovale Gebilde in einem alten subgingivalen Zahnstein.
OV = 12.000 : 1

Abb. 11: Lange Kristalle umwachsen in paralleler Aus-
und 12: richtung große kristallfreie Räume mit einer
homogen erscheinenden organischen Matrix. Zell-
grenzen sind nicht zu erkennen.

OV = 10.000 : 1

Abb. 13: Büschelweise angeordnete lange Kristalle in ei-
nem alten subgingivalen Zahnstein. Die Kristall-
länge beträgt ca. 2.500 Å.

OV = 20.000 : 1

Abb. 14: Große, ca. 3.300 Å lange Kristalle (Hydroxylapa-
tit) in paralleler Anordnung. Eine organische
Matrix ist nicht zu erkennen.

OV = 15.000 : 1

Abb. 15: Kompakter alter Zahnstein mit feinen Kristallen
in sehr dichter Lagerung.

OV = 7.000 : 1

Abb. 16: Zahnstein von einem verlagerten oberen Eckzahn
mit infizierter Pericoronarzyste. Dichte Lagen
von ausschließlich Whitlockit-Kristallen. Mikro-
organismen fehlen.

OV = 12.000 : 1

Abb. 17: Verschiedene Kristalltypen in miteinander ver-
flochtener wahlloser Anordnung. Der Zahnstein
ist hier über weite Bereiche frei von Mikroorga-
nismen, da die Infektion der Pericoronarzyste
noch nicht eingetreten ist. Kristalllänge bis
ca. 2.700 Å.

OV = 12.000 : 1

Abb. 18: Zahnstein von einem verlagerten Eckzahn mit infizierter Pericoronarzyste. Übergang von relativ homogen erscheinender Mineralisation ohne Mikroorganismen zu stark mit Bakterien durchsetzten Bereichen.

OV = 8.000 : 1

Abb. 19: Unterschiedlich lange Kristalle und vollkommen mineralisierte Mikroorganismen im Zahnstein eines verlagerten Eckzahnes. Kristalllänge ca. 600 Å - 2.000 Å. Daneben Felder von Whitlockit-Kristallen.

OV = 24.000 : 1

Abb. 20: Dichter subgingivaler Zahnstein mit nur einer Kristallart (Whitlockit).

OV = 25.000 : 1

Abb. 21: Ultradünnschnitt von der Zement-Zahnstein-Grenze. Der Übergang wird durch die unterschiedlichen Kristalle und deren Anordnung verdeutlicht. Eine organische Zwischenschicht ist nicht zu erkennen. Der Zahnstein ist dem Zement direkt aufgewachsen.

OV = 14.000 : 1

Abb. 22: Ausschnittsvergrößerung aus Abb. 21. Eine cuticulare Schicht zwischen Zahnstein und Zement fehlt.

OV = 27.000 : 1

Abb. 23: Der subgingivale Zahnstein kann durch die eingelagerten Mikroorganismen eindeutig als solcher identifiziert werden. Beim Versuch, den Zahnstein zu entfernen, wurde ein Teil der Zementschicht abgerissen.

OV = 15.000 : 1

Abb. 24: Bei der Zahnsteinentfernung entstandener Spalt zwischen Zement und Zahnstein. Zum Teil wurde Zement mit abgesprengt. In dem Spaltraum setzt die Mineralisation bereits wieder ein.

OV = 8.000 : 1

Abb. 25: Ebenfalls bei der Zahnsteinentfernung entstandener Spalt. Der Spaltraum ist durch organische Substanz und Mikroorganismen ausgefüllt. Im unteren Bildabschnitt ist die Remineralisation einer alten Zementkaries durch den Zahnsteinansatz zu erkennen.

OV = 7.000 : 1

Abb. 26: Supragingivaler Zahnstein ist auf altem subgingivalen Zahnstein aufgewachsen. Die Pfeile deuten auf die cuticulare, noch nicht vollkommen mineralisierte Schicht zwischen den beiden Zahnsteinen. Der supragingivale Zahnstein ist von einer bakterienreichen Plaque bedeckt.

OV = 9.000 : 1

Abb. 27: Auf einer Folie aufgelagerter Zahnstein. Die glatten Ränder zeigen an, daß es sich um ein abgesprengtes und in die parodontale Tasche verschlepptes Zahnsteinfragment handelt.

OV = 8.000 : 1

Abb. 28: Auf einer Folie gezüchteter junger subgingivaler Zahnstein, der stark von Mikroorganismen durchsetzt ist.

OV = 6.000 : 1

Abb. 29: Mineralisationsfront eines auf einer Folie gezüchteten subgingivalen Zahnsteins. Die Mineralisation beginnt zunächst interbakteriell, jedoch sind in der ersten Schicht unterhalb der Mineralisationsfront bereits die Mikroorganismen fast vollständig mineralisiert, während in der Tiefe nur vereinzelt Kristalle in den Bakterien auftreten.

OV = 14.000 : 1

Abb. 30: Ausschnitt aus einer Mineralisationsfront von jungem subgingivalen Zahnstein. Weit von der Mineralisationsfront entfernt beginnt bereits die interbakterielle Kristallkeimbildung.

OV = 16.000 : 1

Abb. 31: Kristalle eines einzigen Typs in jungem subgingivalen Zahnstein. Es handelt sich um Hydroxylapatitkristalle von ca. 300 Å - 800 Å Länge.

OV = 25.000 : 1

Abb. 32: Nebeneinander tauchen im subgingivalen Zahnstein in tieferen Lagen vollständig mineralisierte Mikroorganismen und Bakterien, die frei von Kristallen sind, auf.

OV = 13.000 : 1

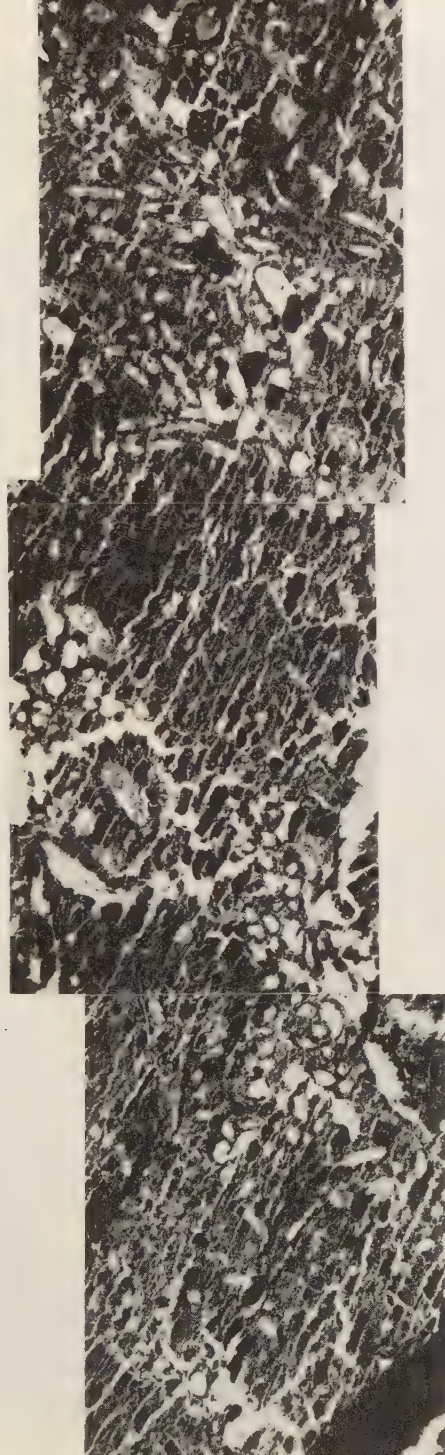
Abb. 33: Auf einer subgingival getragenen Folie aufgewachsener Bakterienrasen mit vorwiegend kokkoiden Formen.

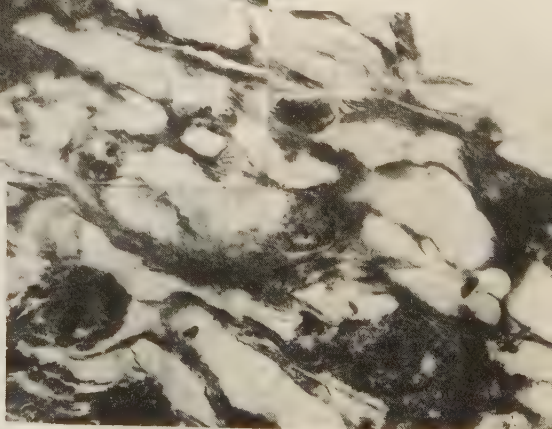
OV = 4.000 : 1

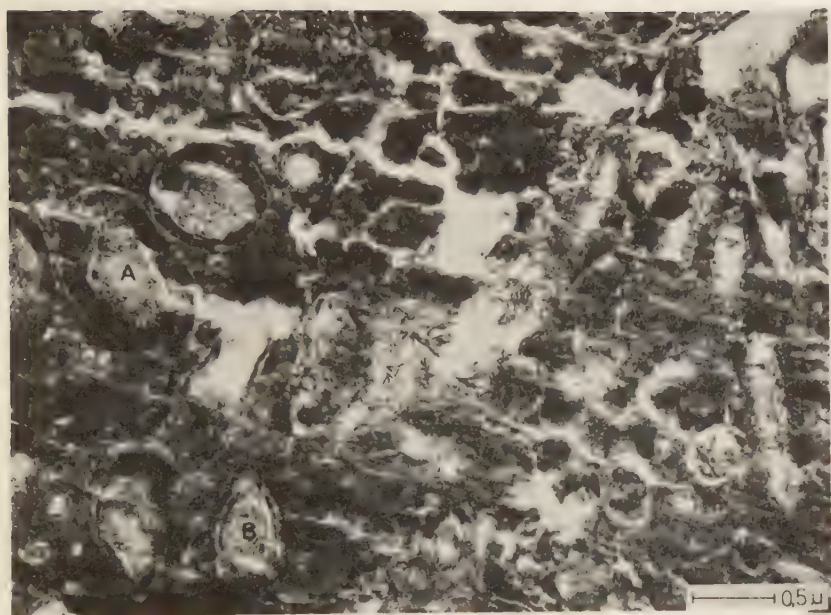
Abb. 34: Auf einer subgingival getragenen Folie aufgewachsener Bakterienrasen mit vorwiegend stäbchenförmigen Formen.

OV = 18.000 : 1

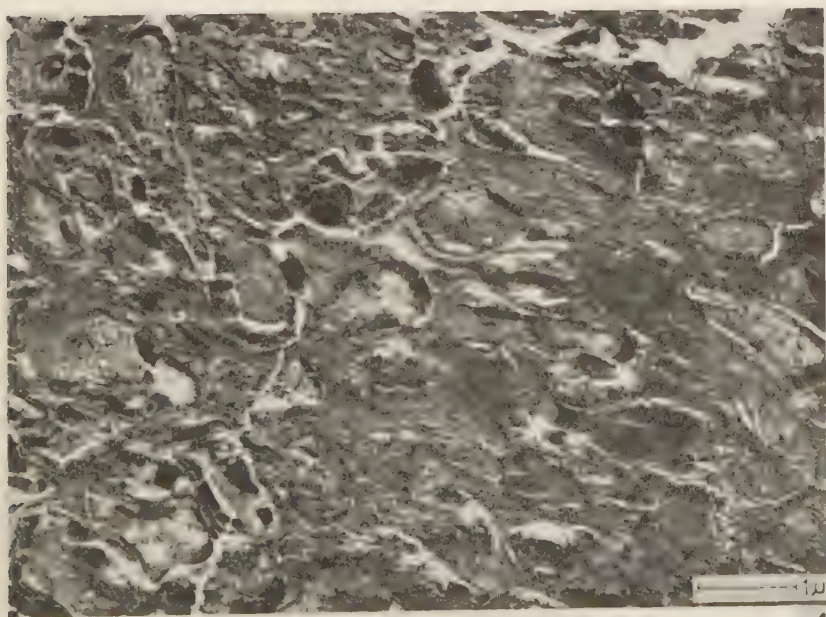
- Abb. 35: Von Mikroorganismen durchsetzter Zelleib eines Leukocyten, der sich auf einer Folie abgelagerte.
OV = 10.000 : 1
- Abb. 36: Epithelzellen, die sich der Folie = F direkt aufgelagert haben. Zwischen den Epithelzellen ist ein Leukocyt eingeschlossen.
OV = 7.000 : 1
- Abb. 37: Epithelzellen, Leukocyten und Zelltrümmer auf einer Folie.
OV = 10.000 : 1
- Abb. 38: Eine plaqueähnliche Bakterienbesiedlung auf einer subgingival getragenen Folie. Die Mikroorganismen befinden sich in verschiedenen Phasen der Stoffwechseltätigkeit und der Zellteilung. Überwiegend treten kokkoide Formen auf.
OV = 10.000 : 1
- Abb. 39: Folienoberfläche von einer "cuticula" bedeckt. Diese ist ca. 4.000 Å dick. Bei L ist ein Leukocyt angeschnitten.
F = Folie; C = cuticula.
OV = 10.000 : 1
- Abb. 40: Folienoberfläche ohne cuticulare Bedeckung. Die Mikroorganismen liegen der Folie direkt auf.
F = Folie.
OV = 25.000 : 1



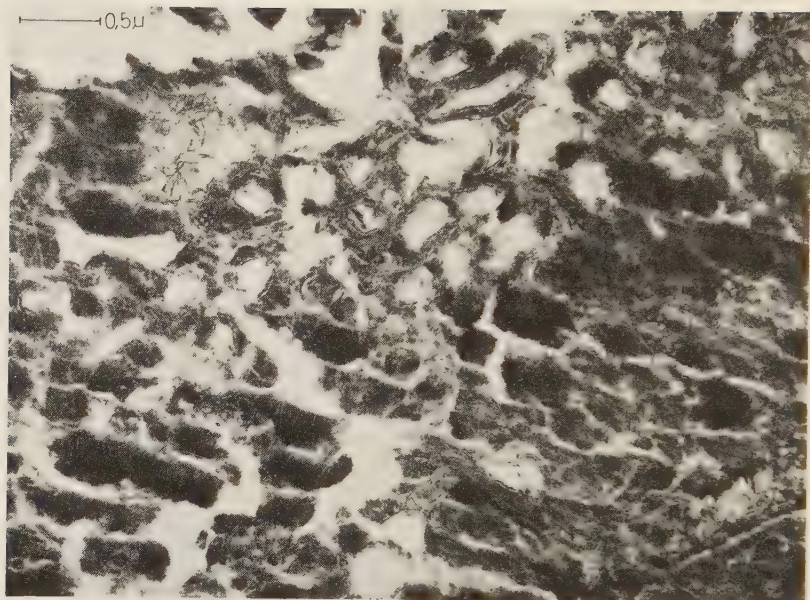




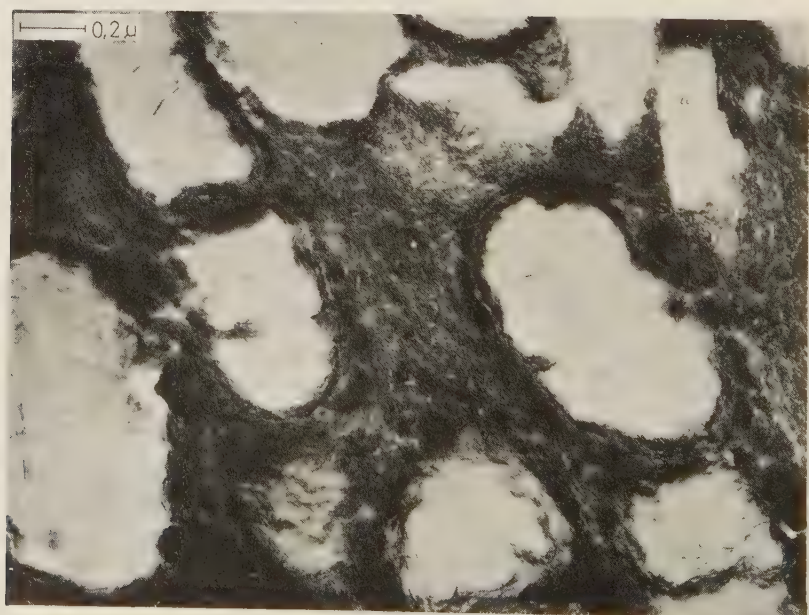
3



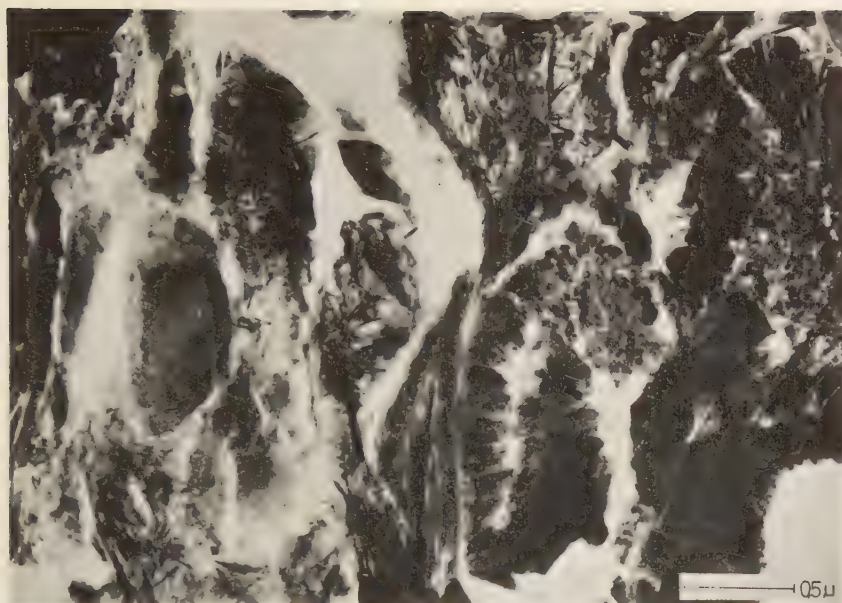
4



5



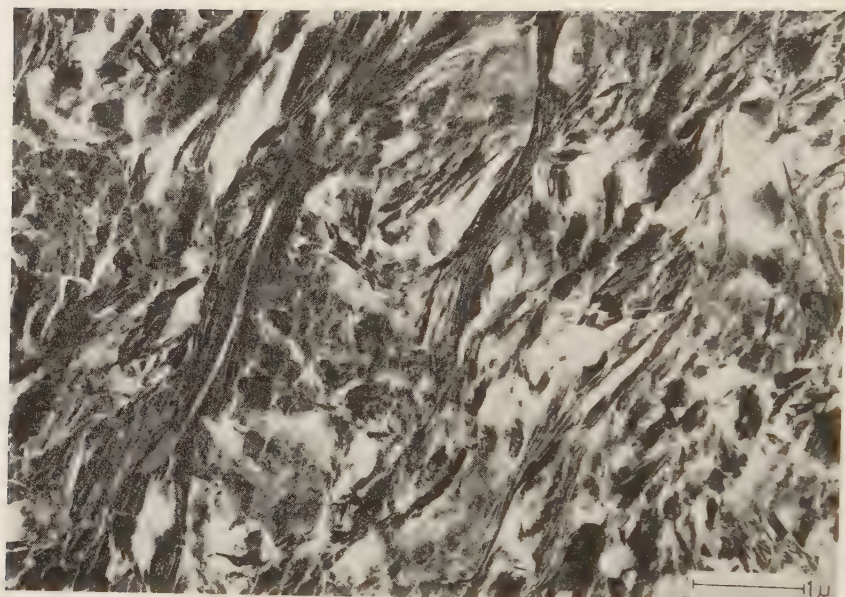
6



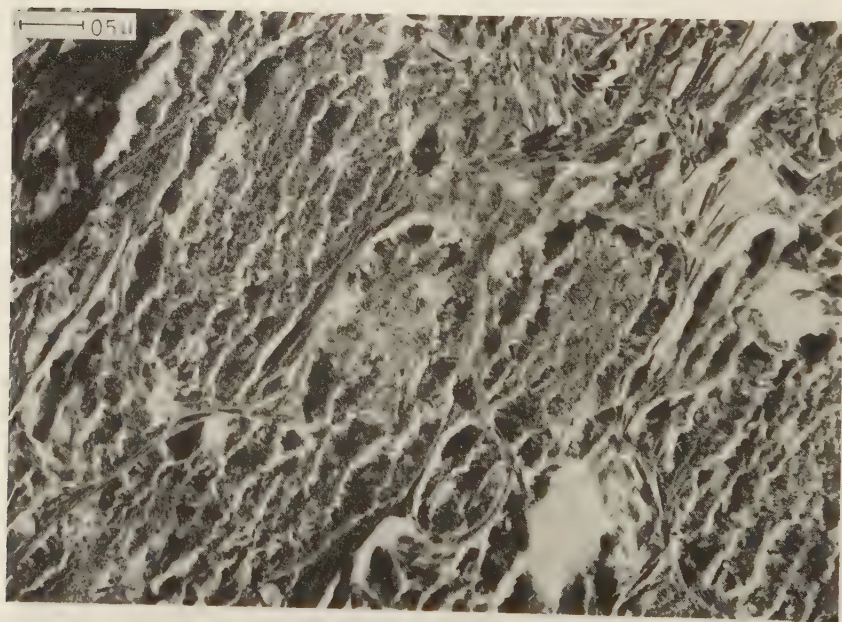
7



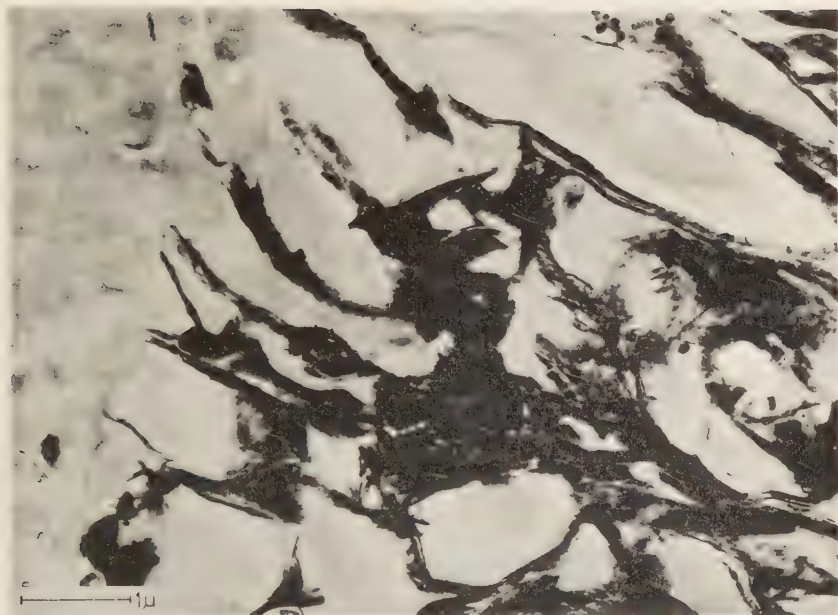
8



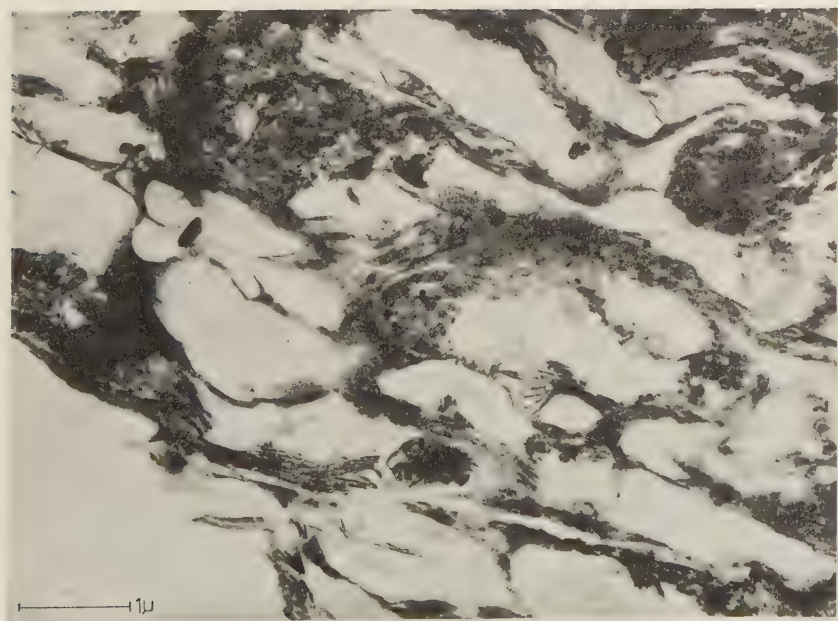
9



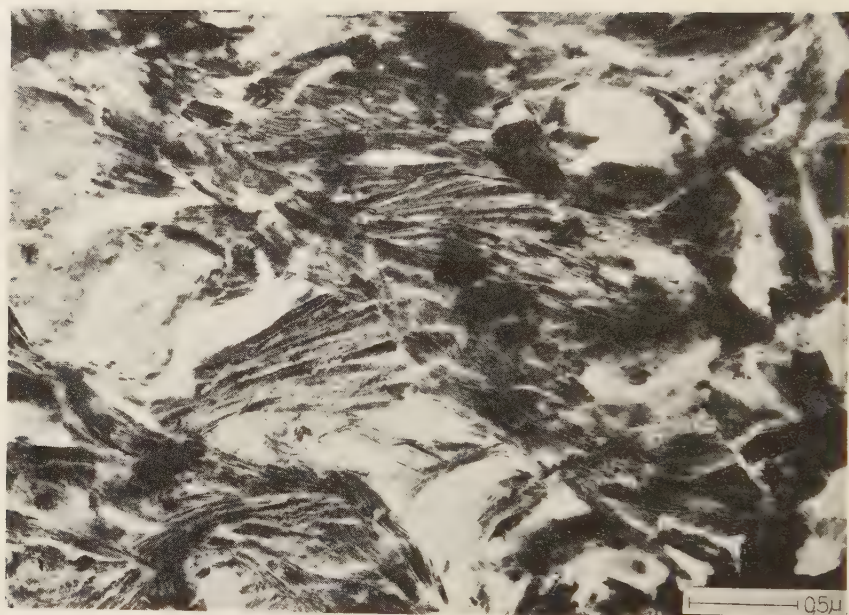
10



11



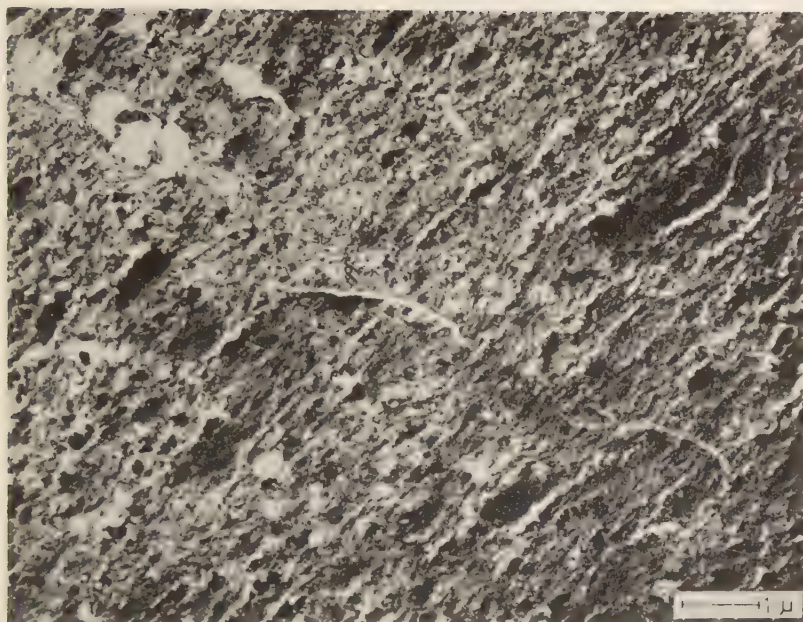
12



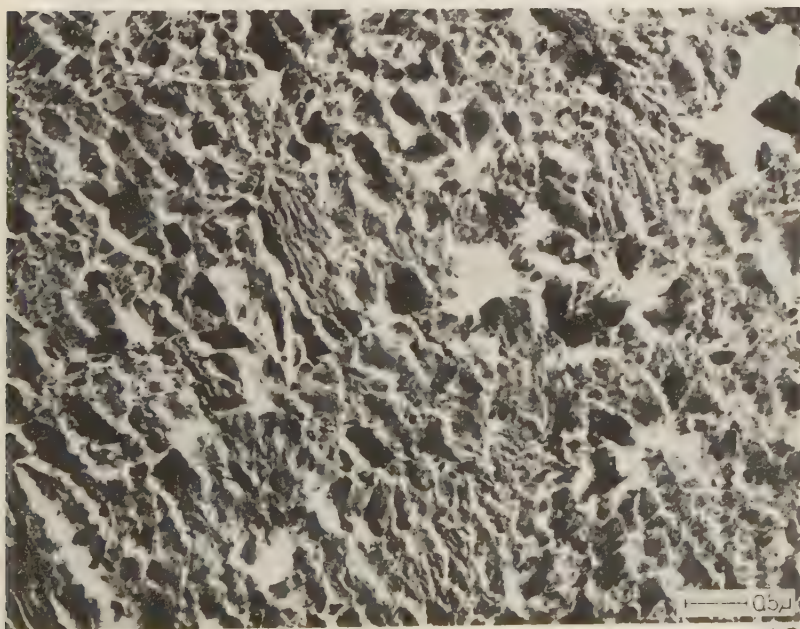
13



14

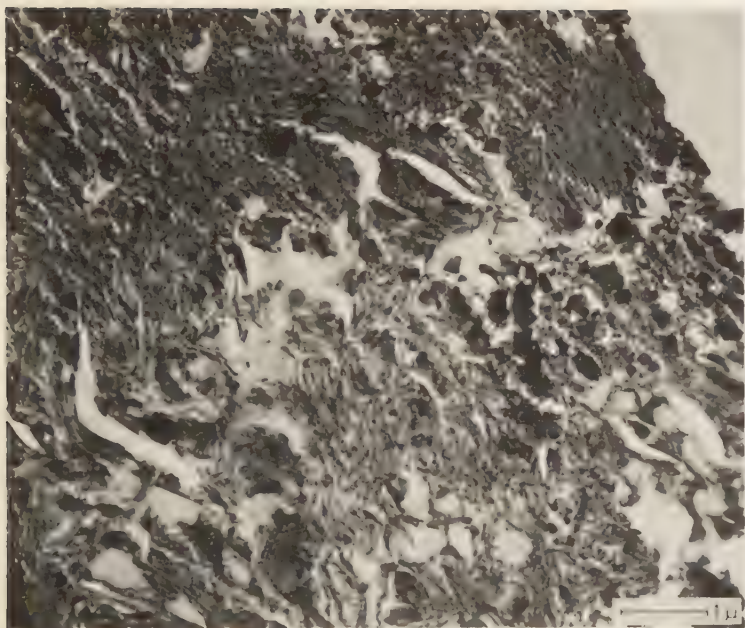


15

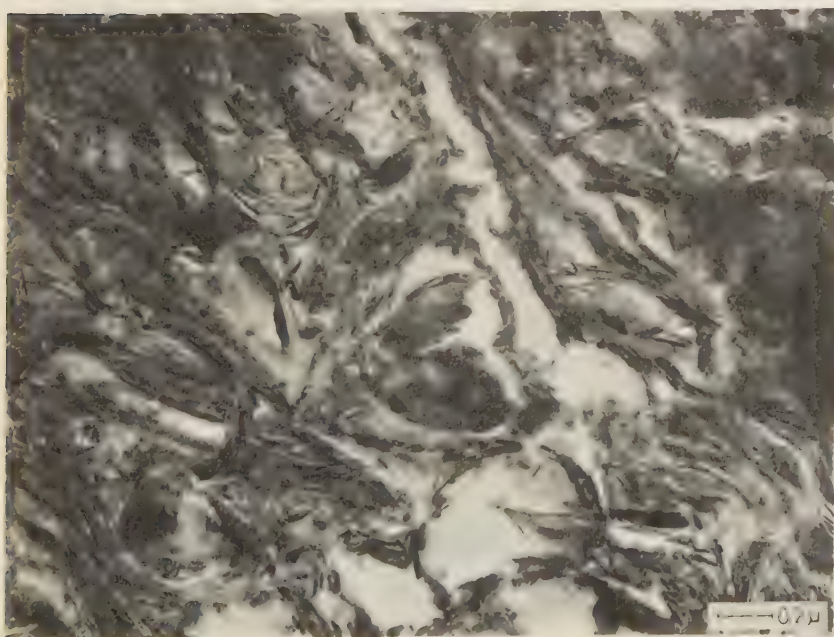


16

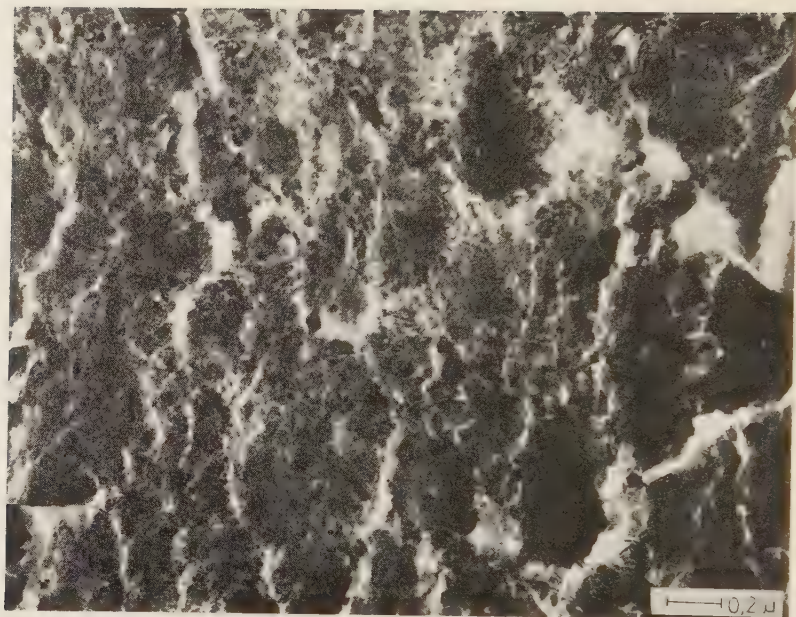




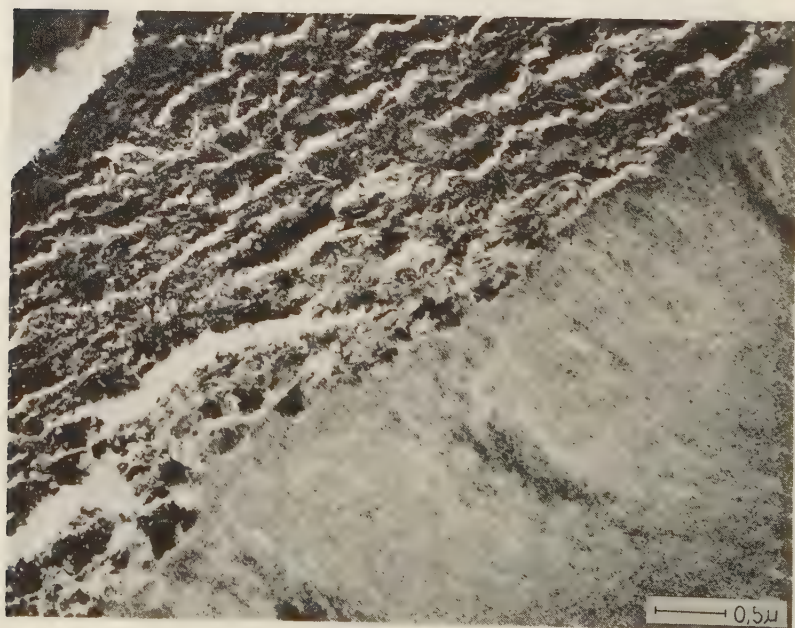
18



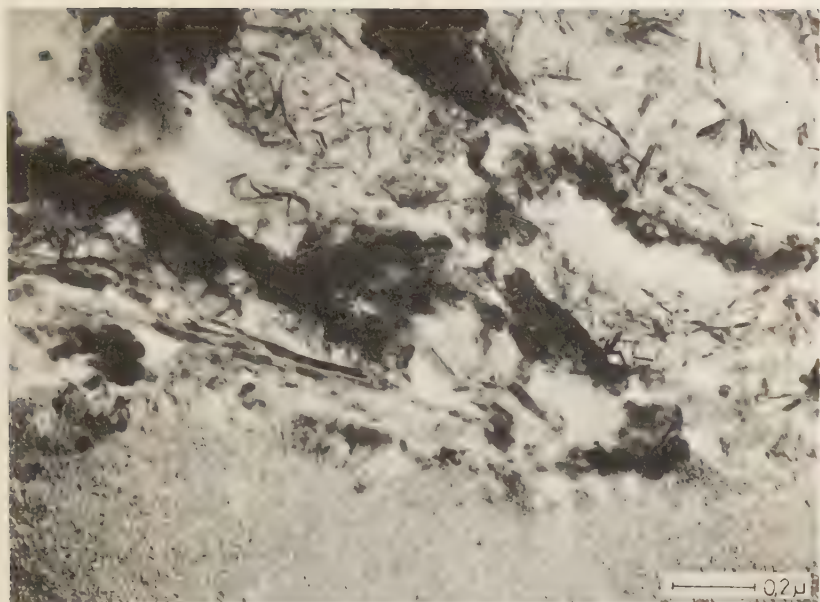
19



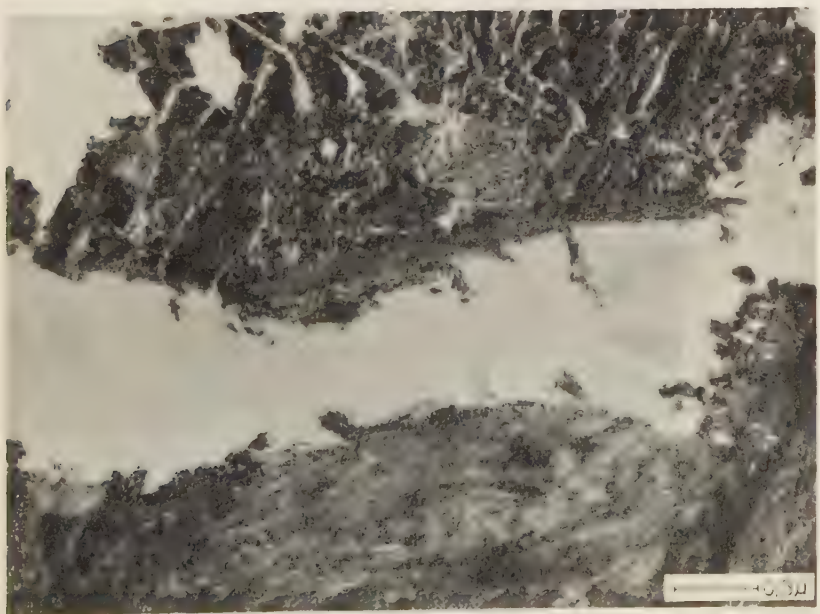
20



21



22



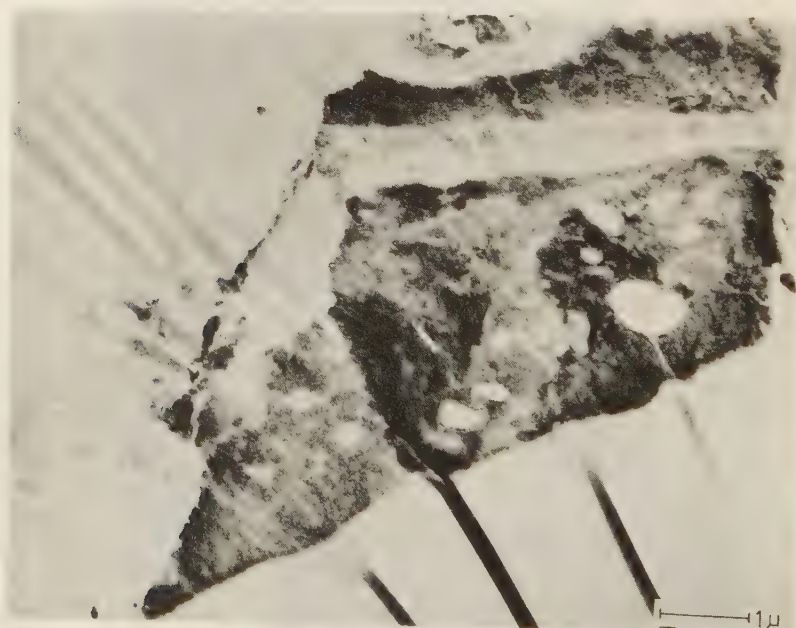
23



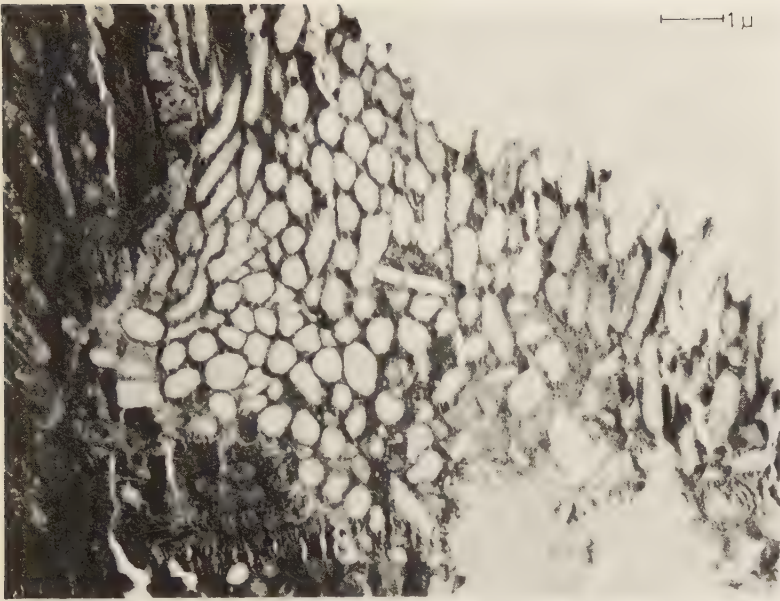




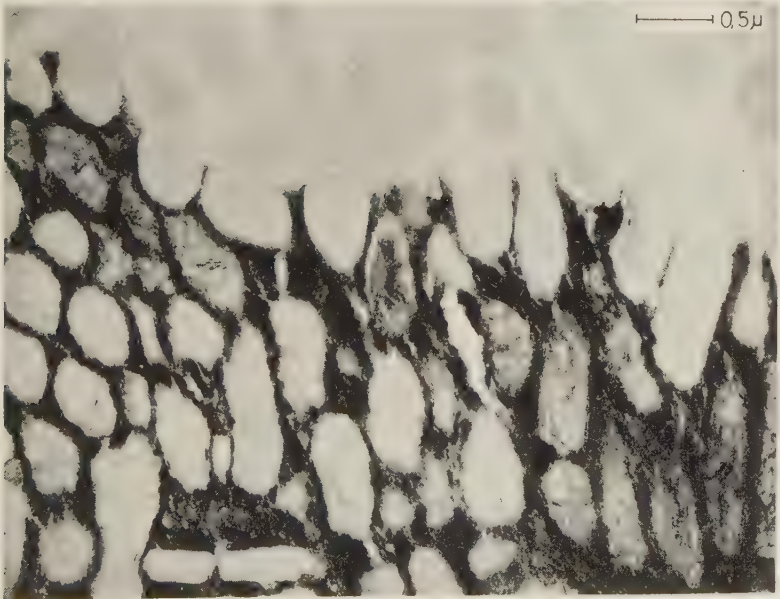
26



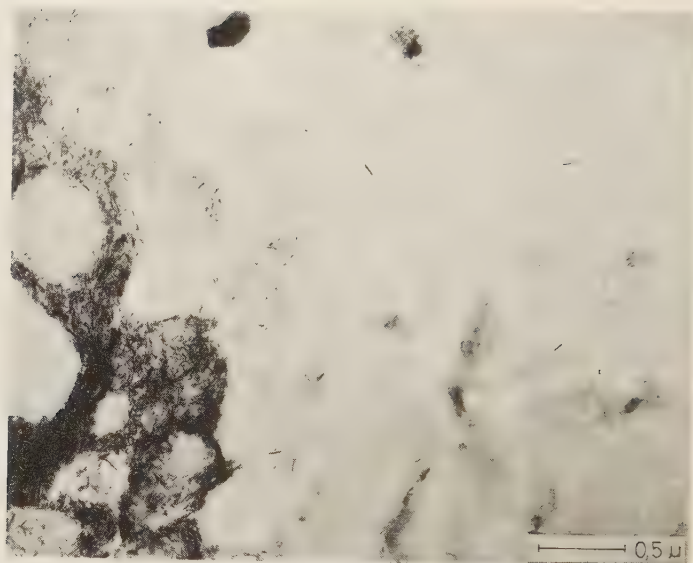
27



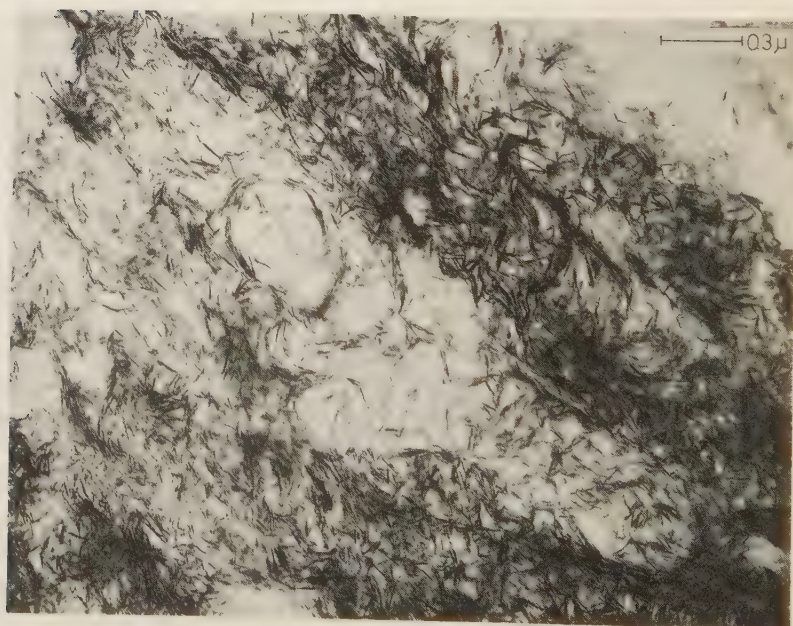
28



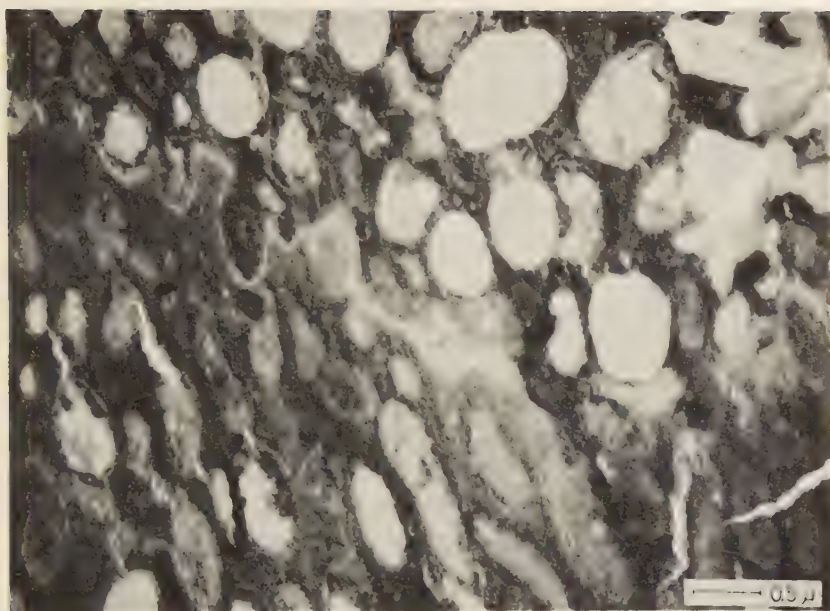
29



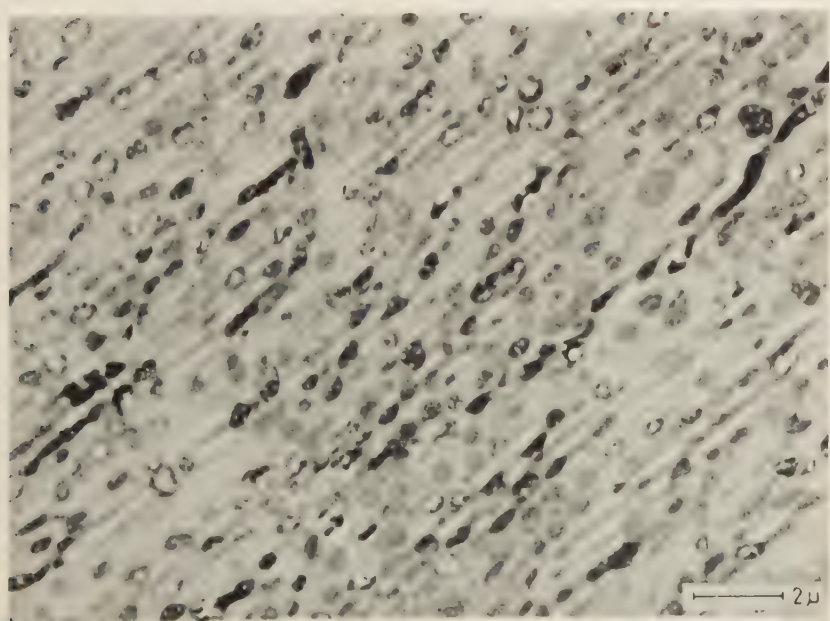
30



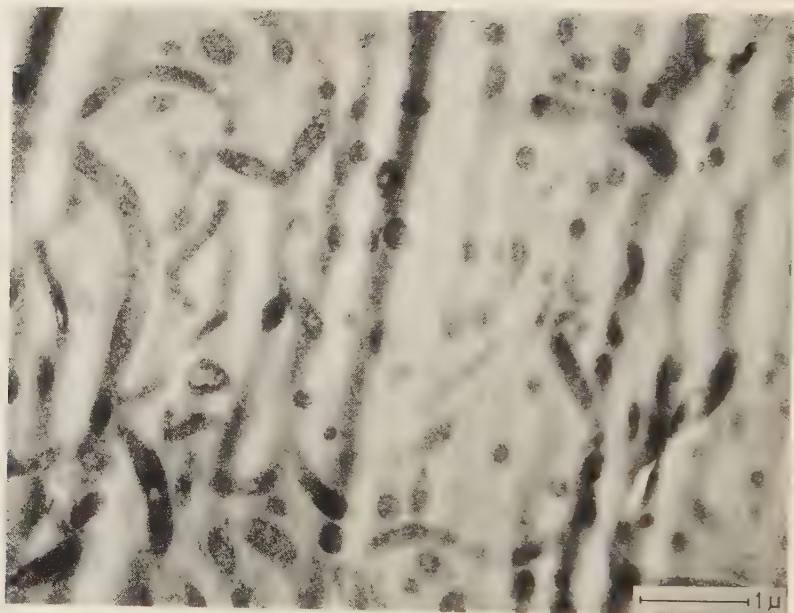
31



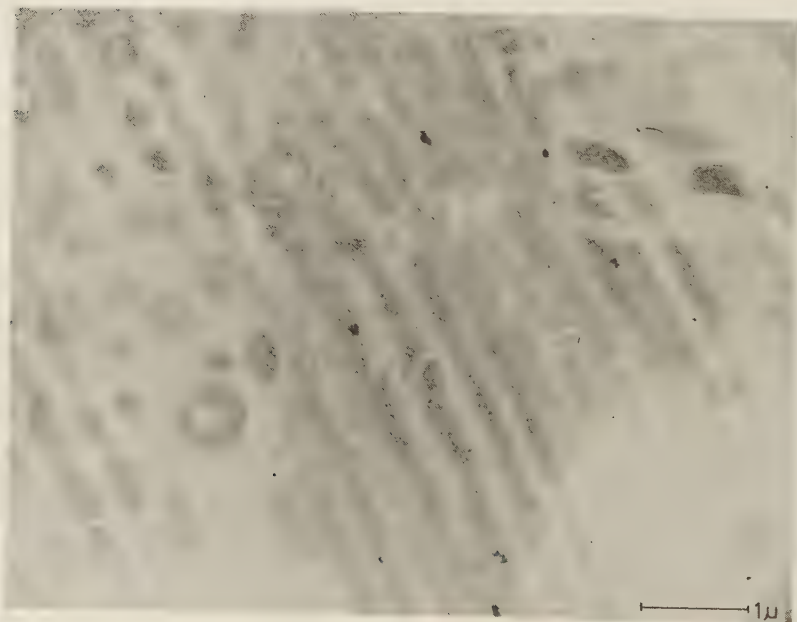
32



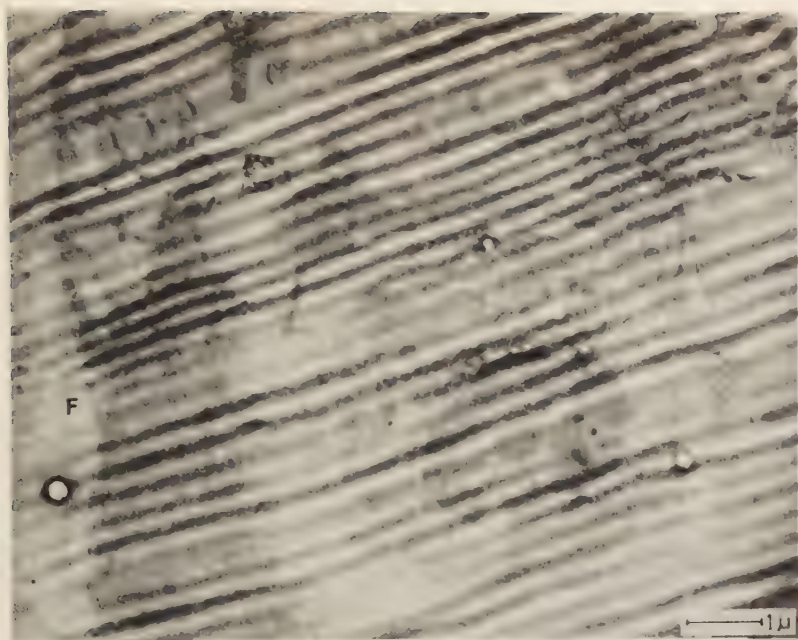
33



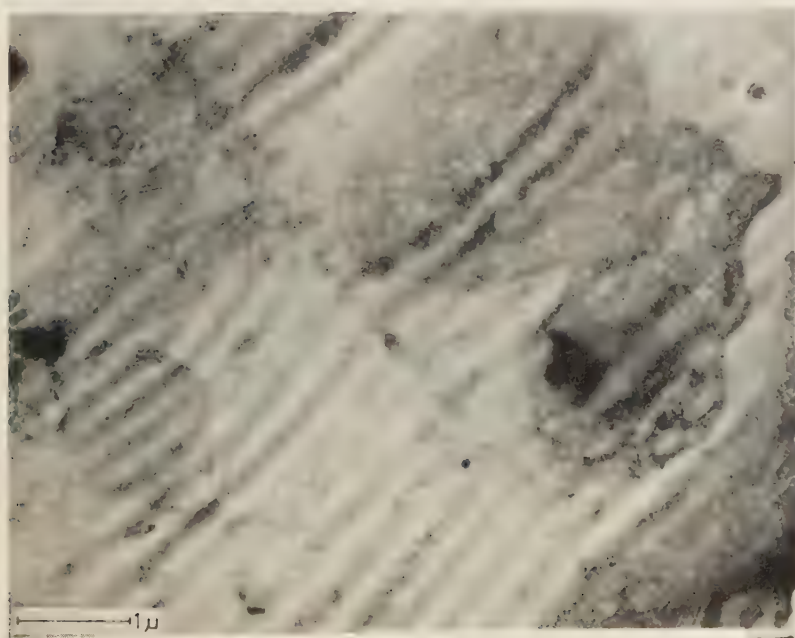
34



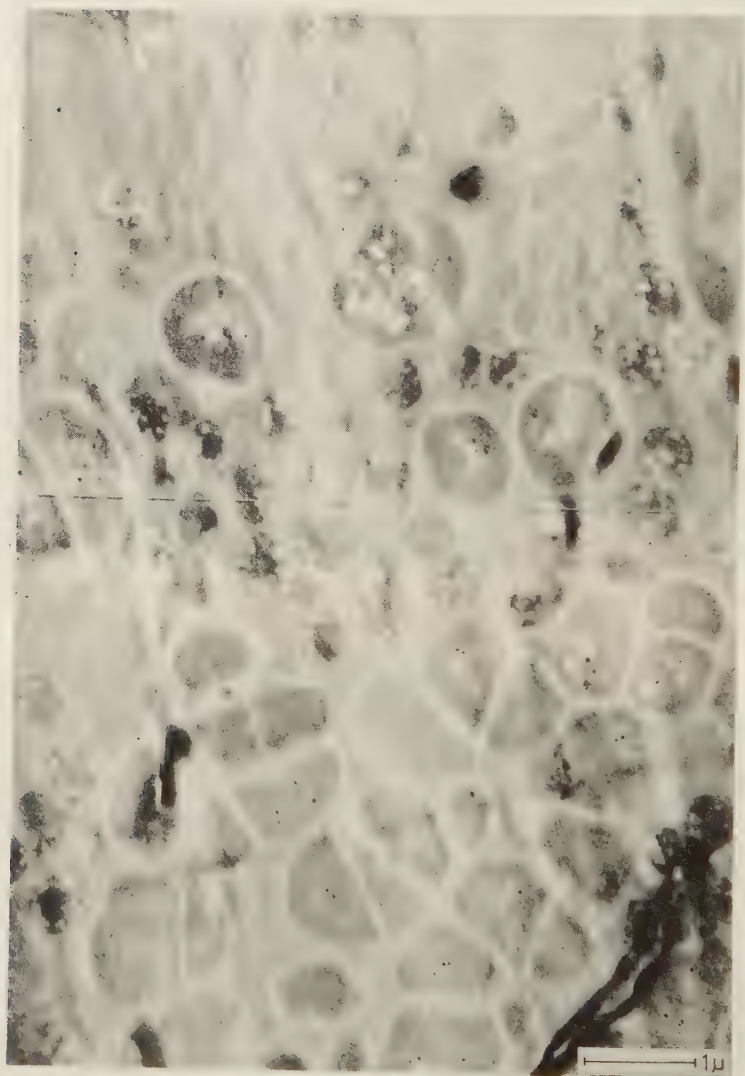
35

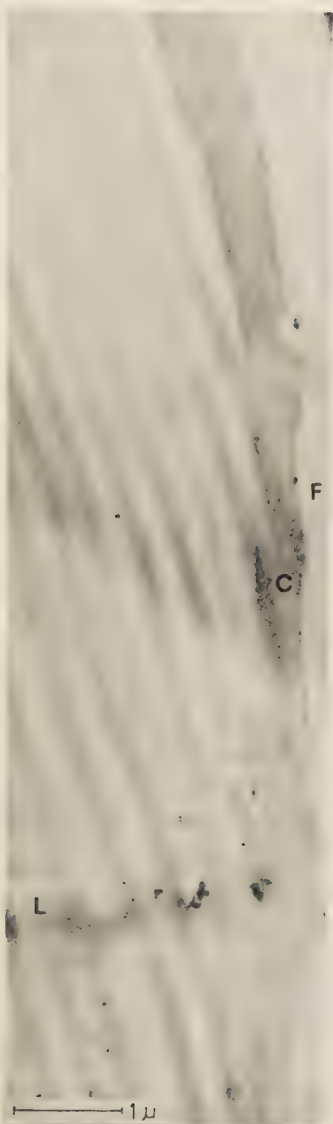


36

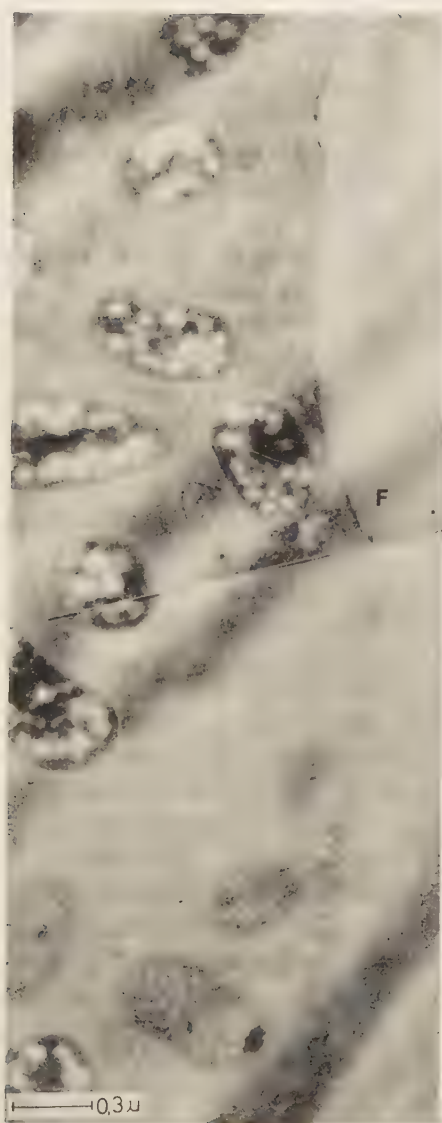


37





39



40

5. DISKUSSION

Im Gegensatz zu den überaus zahlreichen Veröffentlichungen über den supragingivalen Zahnstein, stützt sich unser Wissen über die Morphologie des subgingivalen Zahnsteins nur auf wenige Arbeiten. Dies mag verschiedene Gründe haben. Einmal mag die Ansicht vieler Autoren, daß beide Zahnsteinarten sich nur topographisch unterscheiden, von vornherein eine exaktere Studie der subgingivalen Ablagerungen überflüssig gemacht haben. Zum anderen bieten lichtoptische Untersuchungsmethoden nur wenig Möglichkeiten, in die Feinstruktur so stark mineralisierter Gebilde wie den Zahnsteinen Einblick zu erhalten.

Auf unentkalkten Schnitten macht das lichtoptische Bild des subgingivalen Zahnsteins einen relativ monotonen, transparenten Eindruck, ohne daß durch die starke Mineralisation Einzelheiten der Struktur zu erkennen sind. Hierher rühren die Angaben über den schichtartigen Aufbau des subgingivalen Zahnsteins (HÖHLING et al. (1962)).

Entkalkte Schnitte geben in der lichtmikroskopischen Untersuchung nur einen unvollkommenen Einblick in die organische Matrix des Zahnsteins wieder. Dadurch sind die vielen widersprüchlichen Aussagen in der Literatur zu erklären.

Während BRAMMER (1926) und auch MÊZL (1950) das Granulationsgewebe der parodontalen Tasche als Hauptmasse der organischen Matrix betrachten, sieht NAESLUND (1926) in den Lepthothrix- und Actinomycesfilamenten die organische Grundsubstanz für die subgingivale Zahnsteinbildung.

Die anorganischen Bestandteile des Zahnsteins konnten bis dato nur indirekt über röntgenspektographische oder chemische Analysen identifiziert werden.

Das elektronenmikroskopische Untersuchungsverfahren bietet den entscheidenden Vorteil, aufgrund des starken Auflösungsvermögens und der Möglichkeit, mit unentkalkten Präparaten zu arbeiten, sowohl organische als auch anorganische, d.h. kristalline Bestandteile in einem Bild zu betrachten.

So zeigen die eigenen Untersuchungen eindeutig, daß der überwiegende Anteil der Mikroorganismen im subgingivalen Zahnstein aus kokkoiden Formen besteht. Vereinzelt sind stäbchenartige Bakterien zu erkennen. Doch fehlen die, vor allem von NAESLUND (1926) beschriebenen Leptothrix- und Actinomycesarten.

Zellen der entzündlichen Sekrete oder gar Granulationsgewebe konnten im subgingivalen Zahnstein ebenfalls nicht nachgewiesen werden. Es ist möglich, daß die von BRAMMER (1926) diesbezüglich gemachten Angaben auf Fehlinterpretationen der durch histologische Färbungen eventuell entstandenen Artefakte beruhen. Dennoch sind seine Beschreibungen des schichtartigen Aufbaus der subgingivalen "Konkremente" zu bestätigen. Auch im elektronenoptischen Bild fallen die wechselnden Abschnitte von einerseits dichten Bakterienhaufen und andererseits überwiegend kristallinen Bereichen auf (siehe dazu z.B. Abb. 1 und 2). Welcher Art die organische Matrix in den letzteren ist, kann mit Hilfe der elektronenoptischen Bilder unentkalkter Dünnschnitte nicht geklärt werden. Es ist jedoch auffallend, daß in diesen Bereichen vorzugsweise sehr große Kristalle ($2.500 \text{ \AA}$ - $3.300 \text{ \AA}$ lang) auftreten, während in den Bezirken mit dichter Bakterienansiedlung die Kristalle nur eine Länge von ca. $250 \text{ \AA}$ er-

reichen. Folgt man dem Matritzenprinzip, wonach die bei der Kristallbildung eindiffundierenden Ionen sich an die Moleküle von kettenartigen Eiweiß- bzw. Glycoproteinfäden anlagern, so liegt der Schluß nahe, daß in den Bereichen der Makrokristalle relativ wenige und besonders lange organische Kristallisationsinduktoren vorgelegen haben.

Das gleiche Prinzip läßt sich auch bei der Mineralisation der Bakterien verfolgen. Hier treten in den Zellmembranen sehr feine, kurze Kristalle auf, die auf die dichte und geordnete Struktur im Bereich der Membranen hinweisen.

Die Dreischichtung der Zellmembranen wird durch die Kristallagerung deutlich wiedergegeben. Im Innern der Mikroorganismen ist das Cytoplasma zu längeren, ungeordneten Strukturen denaturiert. Hier zeigen sich dementsprechend auch größere und ungeordnet gelagerte Kristalle.

Gleiche Beobachtungen machten HÖHLING und Mitarbeiter (1969) bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen der organischen Matrix in Speichelsteinen.

Die unterschiedliche Kristallanordnung in einigen bakterienähnlichen Gebilden, wie sie z.B. Abb. 3 und 7 zeigen, deutet darauf hin, daß es sich hier um einen anderen Typ von Mikroorganismen handeln muß. Statt einer Dreischichtung der Bakterienmembranen fallen die in einer Schicht senkrecht zur Oberfläche ausgerichteten Kristalle auf. Bakterienähnliche Mikroorganismen mit einschichtigen Zellgrenzen sind in der menschlichen Mundhöhle in der Gruppe der Pilze zu finden. Unter den Pilzen ist die Hefe *candida albicans* ein obligater Bewohner der Mundhöhle. Aufgrund der Größe und der länglich-ovalen Form könnte es sich bei den beschriebenen Gebilden um diese Pilzart handeln.

Neben den eindeutig als Mikroorganismen zu identifizierenden Strukturen müssen die in einigen subgingivalen Zahnsteinen häufig anzutreffenden relativ großen Räume Erwähnung finden, in denen zwar eine organische, elektronendichtere und homogen erscheinende Grundsubstanz zu finden ist, die aber keine Zellgrenzen erkennen lassen. Der äußeren Form nach könnte es sich hier ebenfalls um Mikroorganismen handeln.

Ähnliche Gebilde beschreiben HÖHLING et al. (1969) wiederum bei Untersuchungen an Speichelsteinen. Die von diesen Autoren veröffentlichten elektronenmikroskopischen Bilder decken sich in auffallender Weise mit denen der Abbildungen 8, 11 und 12. HÖHLING und Mitarbeiter sprechen von "Globuli", die sie als zu Tropfen verdichtete Mucoproteine deuten. Andererseits schließen sie nicht aus, daß es sich um zersetztes Bakterienprotoplasma handeln könnte. Auf die parodontale Tasche und den subgingivalen Zahnstein transponiert, könnte das bedeuten, daß es sich bei diesen "Globuli" neben zersetzten Mikroorganismen auch um aus den entzündlichen Exsudaten kondensierte Eiweißkörper handeln könnte. Unklar bleibt dennoch, warum es im Innern dieser Räume nicht zu Mineralisationserscheinungen kommt.

Die mineralischen Elemente im subgingivalen Zahnstein lassen sich im elektronenoptischen Bild nur bedingt darstellen.

Neben den eindeutig von ihrer Form und Größe her als Hydroxylapatit identifizierbaren Kristallen treten größere Bereiche eines anderen Kristalltyps auf. Da die Kristalllagerung in diesen Bereichen besonders dicht ist, sind die einzelnen Kristalle nur schwer zu unterscheiden. Es handelt sich um kurze, plättchenartige Kristalle mit annähernd rautenartigen Umrissen. In der Literatur werden diese Kristalle

aufgrund von Elektronenbeugungsdiagrammen als Tricalciumphosphat = Whitlockit beschrieben (HÖHLING und GÜLLENSTERN (1962)).

Nach NEWSELY (1965, 1968) wird dieses Mineral im biologischen Milieu im Beisein von Fremdionen (Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+}) aus Calcium- und Phosphationen gebildet. Magnesium ist im Speichel zu $0,7 \text{ mg}/100 \text{ cm}^3$ vorhanden, im Serum jedoch beträgt der Mg-Anteil $2 \text{ mg}/100 \text{ cm}^3$. Da die Taschensekrete als entzündliches Exsudat betrachtet werden müssen, ist das vermehrte Auftreten des Whitlockits im Bereich des subgingivalen Zahnsteins durchaus verständlich. Nach Angaben von JENSEN und DANØ (1954) beträgt das Apatit/Whitlockit Verhältnis im supragingivalen Zahnstein $74 : 26$, während im subgingivalen Zahnstein eine deutliche Zunahme des Whitlockitanteils nachweisbar ist, Apatit/Whitlockit Verhältnis $54 : 46$.

Ob außer Hydroxylapatit und Whitlockit noch weitere Minerale, wie z.B. Brushit oder Octacalciumphosphat, im subgingivalen Zahnstein vorliegen, läßt sich mit Hilfe elektronenoptischer Bilder nicht eindeutig klären. Eigene röntgenographische Untersuchungen und Elektronenbeugungsdiagramme sind nicht durchgeführt worden, jedoch weisen die sich ständig wiederholenden Bilder von Hydroxylapatit- und Whitlockitkristallen auf das vorwiegende Auftreten dieser beiden Minerale im subgingivalen Zahnstein hin.

Betrachtet man die Vielzahl der im elektronenmikroskopischen Bild auftretenden Strukturen, so muß der in der lichtoptischen Untersuchung relativ einförmig erscheinende subgingivale Zahnstein als ein sehr komplexes Gebilde angesehen werden. Im Vergleich mit den in der Literatur gemachten

Angaben über den supragingivalen Zahnstein können in morphologischer Hinsicht keine charakteristischen Unterschiede festgestellt werden. Es fällt daher schwer, aus der Betrachtung elektronenoptischer Bilder des reifen subgingivalen Zahnsteins ätiologische Schlüsse zu ziehen.

Nach den positiven Erfahrungen, die bei "in vivo" Versuchen mit Folien zur Züchtung des supragingivalen Zahnsteins gemacht wurden, sollte es daher naheliegend sein, ähnliche Methoden zur Erforschung der subgingivalen Zahnsteinbildung anzuwenden. Doch sind darüber in der Literatur keine Angaben zu finden. Versuche in dieser Richtung, wie sie von KOPCZYK und CONROY (1968) unternommen wurden, sind mit dem methodischen Fehler behaftet, daß durch mechanische Reinigung der Zahnwurzeln in situ keine, von subgingivalen Zahnsteinen absolut freie Wurzeloberfläche zu erhalten ist. Haftengebliebene Reste alten Zahnsteines müssen zwangsläufig zu Interpretationsirrtümern führen.

Die einzige brauchbare Methode scheint hier das Einbringen von Trägerfolien in die parodontale Tasche zu sein. Auf diese Weise gezüchteter Zahnstein muß mit Sicherheit als Neubildung im subgingivalen Bereich angesehen werden.

Die in der vorliegenden Arbeit unternommenen "in vivo" Versuche mit Folien erbrachten sehr unterschiedliche Ergebnisse.

Während für den supragingivalen Bereich bereits nach zwei bis sechs Tagen auf allen Folien eine beginnende Mineralisation beobachtet werden konnte (MANDEL, LEVY und WASSERMANN (1957), SCHNEIDER (1959), HAZEN und ZANDER (1959), LENZ, SCHROEDER und MÜHLEMANN (1964) u.v.a.), zeigten die

subgingival getragenen Folien nach sieben Tagen nur in einem Falle frische Zahnsteinbildung. Da bei den drei ausgewählten Probanden bereits subgingivaler Zahnstein vorhanden war, sie somit zur Zahnsteinbildung neigten, und es nicht anzunehmen ist, daß durch das Einbringen der Folien entscheidende Milieuveränderungen in den parodontalen Taschen aufgetreten sind, ist dieses Ergebnis überraschend. Es mag andererseits die klinische Erfahrung bestätigen, daß die subgingivale Zahnsteinbildung nur langsam vonstatten geht.

Über den Inhalt parodontaler Taschen liegt eine Reihe von Arbeiten vor (WAERHAUG (1955), BRILL und KRASSE (1958), MC MILLAN und BURRILL (1958), BRILL (1959), EGELBERG (1963 und 1964), KRASSE und EGELBERG (1962).

Die übereinstimmende Ansicht dieser Forscher ist, daß es sich bei den Taschensekreten um Exsudate entzündlichen Ursprunges handelt. Danach soll ein ständiger Strom von Tascheneinhalt aus dem subgingivalen Raum in die freie Mundhöhle bestehen. Ein umgekehrter Transport von Stoffen aus der Mundhöhle in die Tasche wird für unmöglich gehalten.

Die durchgeführten Folienversuche scheinen diese Ansicht zu bestätigen. Wenn auch mit individuellen Unterschieden, so finden sich auf den Folien die verschiedenartigsten Produkte eines entzündlichen Geschehens. Neben Epithelzellen, Lympho- und Leukocyten in verschiedenen Graden des Zerfalls und Zelltrümmern unbekannten Ursprungs finden sich vor allem Mikroorganismen. Bei diesen überwiegen die kokkoiden Formen, jedoch sind die stäbchenartigen Mikroorganismen häufiger als in dem ausgereiften, subgingivalen Zahnstein anzutreffen. Auffallend ist das Fehlen der in der Literatur immer wieder beschriebenen Aktinomyces- und Leptothrixfilamente.

Es erscheint zweifelhaft, ob diese Ablagerungen mit den supragingivalen Plaquebelägen zu vergleichen sind. Die für die Plaque typische verdichtete und verfilzte Struktur kann bei den subgingivalen Ablagerungen nicht sicher gesehen werden. Vielmehr scheint es sich um die mit dem Begriff "Detritus" charakterisierten, mehr oder weniger zufälligen Ablagerungen von Produkten eines entzündlichen Prozesses zu handeln.

Vielleicht liegt hier die Erklärung für das langsamere Wachstum des subgingivalen Zahnsteins. Eine so stark verdichtete Substanz wie die supragingivale dentale Plaque bietet den eindiffundierenden Ionen eine weitaus konzentriertere Matrix an Kristallisationskeimen. Hier wird die Kristallbildung zwangsläufig schneller und in größerer Zahl als in dem lockeren Gefüge eines "Detritus" vorangehen.

Zur Klärung ätiologischer Faktoren mag der Befund am Zahnstein eines verlagerten oberen Eckzahn mit infizierter Pericoronarzyste beitragen. In den tieferen Schichten dieses Zahnsteines fehlen die Mikroorganismen völlig. Das elektronenoptische Bild wird hier durch dichte Lagen von Apatit- und Whitlockitkristallen gekennzeichnet. Eine eventuell vorhandene organische Matrix ist maskiert.

Die Zahnsteinbildung muß zu diesem Zeitpunkt unter sterilen Bedingungen stattgefunden haben. Die an organischen und anorganischen Bestandteilen reiche Zystenflüssigkeit war das Substrat für die Zahnsteinbildung. Das konstante und sterile Milieu führte zu einer sehr dichten und homogen erscheinenden Mineralisation (siehe dazu die Abbildungen 16 und 17). Mit dem Zeitpunkt der Bakterieninvasion und Infektion mit anschließender Fistelung zur Mundhöhle

wurde das Milieu entscheidend geändert. Jetzt tauchen auch mineralisierte Mikroorganismen im Zahnstein auf. Das Erscheinungsbild des Zahnsteins wird unruhiger und der ehemals kompakte Eindruck geht verloren (Abb. 18 und 19).

Diese Befunde bestätigen die Ergebnisse von Versuchen mit unter sterilen Bedingungen aufgezogenen Tieren (GLAS und KRASSE (1962), GUSTAFSSON und KRASSE (1962)). Keimfrei gehaltene Ratten zeigten den gleichen Grad von Zahnsteinbefall wie unter normalen Bedingungen lebende Tiere. Die Zahnsteinbildung ist somit nicht unbedingt an die Anwesenheit von Mikroorganismen gebunden. Die Bakterien bestimmen durch ihre Masse die Menge an organischer Substanz und tragen dadurch zu dem unterschiedlich ausgeprägten Zahnsteinansatz bei.

Das Problem der Haftung des Zahnsteins auf der Zahnoberfläche wird in den älteren Publikationen als ein rein mechanisches Prinzip verstanden. So sind nach NAESLUND (1926) und BIBBY (1935) allein die Leptothrix- und Actinomycesfilamente für die Haftung verantwortlich. Durch ihre tiefe Verankerung in der Zementschicht sorgen sie für die Bindung des Zahnsteins an die Zahnoberfläche. ZANDER (1953) sieht ebenfalls in den Mikroorganismen das Mittel der Haftung. Dazu kommt die rein mechanische Verankerung in den Unregelmäßigkeiten der Zementoberfläche und die Haftung in Resorptionslakunen des Zements (MANDEL und LEVY (1957)).

In jüngster Zeit wird nach elektronenmikroskopischen Befunden in erster Linie das Zahnoberhäutchen (cuticula dentis) als die haftvermittelnde Substanz angesehen (MANDEL, LEVY und WASSERMANN (1957), HAZEN und ZANDER (1959), THEILADE (1964), SCHROEDER, LENZ und MÜHLEMAN (1964) u.a.).

Doch wird auch hier die Aufgabe des Zahnoberhäutchens nach rein mechanistischen Gesichtspunkten betrachtet. Die cuticula dentis gilt als eine Art Klebstoff, durch den die Mikroorganismen und sonstigen Bestandteile des Zahnsteins auf der Zahnoberfläche befestigt werden.

Wie die eigenen Untersuchungen der Zement-Zahnstein-Grenze zeigen, kann eine cuticularähnliche Zwischenschicht im reifen subgingivalen Zahnstein nicht nachgewiesen werden (Abb. 21 - 23). Die Mineralisation setzt unmittelbar an der Zahnoberfläche an, zum Teil sind mineralisierte Mikroorganismen dem Zement direkt angelagert. Ebenso zeigen die "in vivo" Versuche mit Folien, daß die Folienoberfläche nur teilweise von einer cuticula bedeckt ist (Abb. 39); andererseits befinden sich abgeschliffene Zellen und Mikroorganismen in direktem Kontakt mit der Folienoberfläche (Abb. 36 und 40).

Wie aus Untersuchungen über den Epithelansatz des Gingivalsaums bekannt ist, benötigen die Epithelzellen keine besondere Substanz, um auf einer Oberfläche zu haften (SCHULTZ-HAUDT, S.D. et al. (1963)). Ein ausgewogenes Zusammenwirken von elektrostatischen Abstoßungskräften und VAN DER WAAL'schen Bindungskräften hält die Zellen in einem Abstand von $100 \text{ \AA}$ - $200 \text{ \AA}$ von der Zahnoberfläche. Durch zusätzliche chemische Bindungen, die durch Protein- oder Proteinpoly-saccharidkomplexe aufgebaut werden, kann die Haftung verstärkt werden. Das bedeutet, daß zwei Körper, die sich bis auf eine bestimmte Distanz genähert haben, fest aneinander haften, ohne daß es einer Zwischenschicht adhäsiven Materials bedarf (BUONOCORE (1963)).

So haften demnach die Mikroorganismen nicht durch mechanische Verankerung in der Zementschicht, sondern sie werden durch physiko-chemische Kräfte an die Zahnoberfläche ge-

bunden. Ebenso muß die Haftung der sonstigen organischen und anorganischen Bestandteile des Zahnsteins verstanden werden. Das Zahnoberhäutchen, das nicht als semipermeable Membran, sondern als eine an Glycoproteiden reiche, viskös-kolloidale Schicht anzusehen ist (LENZ (1970)), bildet in Bezug auf die Haftung keine Ausnahme zu den anderen organischen Substanzen der Zahnbeläge. Eindiffundierenden Ionen wird von dem Zahnoberhäutchen kein Widerstand entgegengesetzt, so daß die Kristallkeimbildung direkt auf der Zahnoberfläche erfolgen kann. Damit vermittelt nicht die cuticula die Haftung des Zahnsteins, sondern physiko-chemische, molekulare Kräfte zwischen gleichartigen Kristallen bewirken die außerordentlich feste Bindung des Zahnsteins an die Zahnoberfläche.

Wenn von diesen Erkenntnissen ausgehend, die Haftung des Zahnsteins betrachtet wird, so ist anzunehmen, daß prinzipielle Unterschiede in den Haftmechanismen beider Zahnsteinarten nicht bestehen. Die in der Literatur immer wieder beschriebene stärkere Haftung des subgingivalen Zahnsteins auf der Wurzeloberfläche muß auf das subjektive Empfinden des Praktikers bei der Zahnsteinentfernung zurückzuführen sein.

Der supragingivale Zahnstein bietet den zahnärztlichen Instrumenten aufgrund seiner balkonartigen Form an gut zugänglicher Stelle in der Mundhöhle bessere Möglichkeiten des Angriffs. Demgegenüber ist der subgingivale Zahnstein, bedingt durch seine Lokalisation, nur schwer zu erreichen. Die unübersichtlichen Verhältnisse im Bereich der parodontalen Tasche, verbunden mit den geringeren und in der Regel flacheren Ablagerungen, erschweren das Entfernen dieser Zahn-

steinart. Außerdem läßt sich der supragingivale Zahnstein, bedingt durch die unterschiedliche Verteilung der organischen und anorganischen Bestandteile in beiden Zahnsteinen, leichter zerlegen. Diese, in der täglichen Praxis gemachten Erfahrungen rechtfertigen jedoch nicht den Schluß, daß unterschiedliche Haftmechanismen für die beiden Zahnsteinarten angenommen werden müssen.

Wenn zusammenfassend der supragingivale Zahnstein als mineralisierte Plaque zu definieren ist, so kann der subgingivale Zahnstein als mineralisierter Tascheninhalt verstanden werden. Je nach Änderung des Milieus und des Tascheninhalts wird sich das Bild des subgingivalen Zahnsteins wandeln und die Vielfalt an strukturellen Einzelheiten verständlich machen.

6. Z U S A M M E N F A S S U N G

Es wurden elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Morphologie des subgingivalen Zahnsteins durchgeführt. An unentkalkten Schnitten konnten sowohl die organischen wie auch die anorganischen Strukturen in ihren Einzelheiten dargestellt werden. Dabei erwies sich das elektronenmikroskopische Bild dieser Zahnsteinart als sehr vielfältig.

Neben Bereichen, die dem supragingivalen Zahnstein gleichen, konnten Bezirke dargestellt werden, die frei von organischer Matrix waren. Auffallend waren die relativ großen Abschnitte von rein kristalliner Substanz, in denen neben außerordentlich kleinen Kristallen auch Bereiche mit sehr großen, parallel gelagerten Kristallen auftraten.

Die aus chemischen Analysen gewonnenen Befunde können mit diesen Ergebnissen erklärt werden.

Aufschlüsse über die Ätiologie des subgingivalen Zahnsteins ergaben Züchtungsversuche auf Trägerfolien und die Befunde an einem verlagerten oberen Eckzahn. Derartige "in vivo" Versuche sind in der Literatur bisher nicht beschrieben worden. Die Haftung des Zahnsteins auf der Zahnoberfläche wurde anhand der elektronenoptischen Bilder und nach den neueren Erkenntnissen der Physikochemie erläutert.

Aus den morphologischen Einzelheiten läßt sich schließen, daß der subgingivale Zahnstein das mineralisierte Abbild des umgebenden Milieus darstellt. Ist dies beim supragingivalen Zahnstein die dentale Plaque, so wird der subgingivale Zahnstein durch die entzündlichen Produkte der parodontalen Taschen geprägt.

7. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- ARKÖVY, J. Diagnostik der Zahnkrankheiten von den durch Zahnleiden bedingten Kiefererkrankungen. F. Zenker, Stuttgart, 238 (1885)
- BARTELS, H.A. Bacterial growth and crystal formation: A possible factor in calculus formation. J. dent. Res. 29, 436 (1950)
- BARTELS, H.A. Bacterial growth and crystal formation: II. production of calcium carbonate crystals. J. dent. Res. 30, 642 (1951)
- BIBBY, B.G. The formation of salivary calculus. Dent. Cosm. 77, 668 (1935)
- BLACK, G.V. Diseases of the Peridental Membrane. In Americ. System of Dentistry, Vol. I Philadelphia (1886)
- BOX, H.K. Formation of subgingival calculus. J. Canad. dent. Ass. 8, 415 (1942)
- BRAMMER, F. Histologische Untersuchungen über Konkrementbildungen insbesondere bei sogenannter Alveolarpyorrhoe. Dtsch. Mschr. Zahnheilk. 44, 177 (1926)
- BRILL, N. Removal of particles and bacteria from gingival pockets by tissue fluid. Acta odont. Scand. 17, 431 (1959)
- BRILL, N. and B. KRASSE The passage of tissue fluid into the clinically healthy gingival pocket. Acta odont. Scand. 16, 233 (1958)

- BUONOCORE, M.G. Principles of adhesive retention and adhesive restorative materials. J. Amer. dent. Ass. 67, 382 (1963)
- BURCHARD and INGLIS Dental pathology and therapeutics. Philadelphia (1915)
- EGELBERG, J. Cellular elements in gingival pocket fluid. Acta odont. Scand. 21, 283 (1963)
- EGELBERG, J. Gingival exudate measurements for evaluation of inflammatory changes of the gingivae. Odontol. Revy 15, 381 (1964)
- ENNEVER, J. Intercellular calcification by oral filamentous micro-organisms. J. Periodont. 31, 304 (1960)
- ENNEVER, J. and B.W. WARNER Phosphatase and the oral actinomyces. J. dent. Res. 31, 25 (1952)
- EVERETT, F. and G.R. POTTER Morphology of submarginal calculus. J. Periodont. 30, 27 (1959)
- GLAS, J.E. and B. KRASSE Biophysical studies on dental calculus from germfree and conventional rats. Acta odont. Scand. 20, 131 (1962)
- GLOCK, G.E. and M.M. MURRAY Chemical investigations of salivary calculus. J. dent. Res. 17, 257 (1938)
- GLOCK, G.E., M.M. MURRAY and P. PINCUS The origin and significance of salivary phosphatase. Biochem. J. 32, 2096 (1938)
- GONZALES, F. and R.F. SOGNAES Electron microscopy of dental calculus. Science 131, 156 (1960)
- GREENE, J.H. Form, location, and classification of subgingival calculus. Amer. J. Orthodont and Oral Surg. 30, 505 (1944)

- GUSTAFFSON, B.E. and
B. KRASSE
Dental calculus in germfree rats.
Acta odont. Scand. 20, 135 (1962)
- HAMPAR, B.,
J.D. MANDEL and
S.A. ELLISON
The carbohydrate components of
supragingival calculus.
J. dent. Res. 40, 752, Abstr.
No. 308 (1961)
- HARNDT, E.
Paradentitis und Parodontose.
C. Hanser, München (1950)
- HÄUPL, K. und
F.J. LANG
Die marginale Paradentitis.
H. Meusser, Berlin 298 (1927)
- HAZEN, S.P.
A study of 1-day and 3-day
calculus.
J. dent. Res. 39, 709, Abstr.
No. 159 (1960)
- HAZEN, S.P. and
H.A. ZANDER
Four-week-old calculus.
J. dent. Res. 38, 710, Abstr.
(1959)
- HILLE, A.
Zur Kenntnis der Alveolarpyrrhoe.
Dtsch. Mschr. Zahnheilk. 289 (1921)
- HÖHLING, H.J. und
E. und M. WANNENMACHER
Über den Zahnstein.
1. Mitteilung.
Dtsch. Zahnärztebl. 16, 143 (1962)
- HÖHLING, H.J. und
F. GÜLLENSTERN
Über den Zahnstein.
2. Mitteilung.
Morphologische Untersuchungen
am Konkrement und Zahnstein.
Dtsch. Zahnärztebl. 16, 704 (1962)
- HÖHLING, H.J.,
G. PFEFFERKORN,
J. RADICKE und
J. VAHL
Elektronenmikroskopische Unter-
suchungen zur organischen Matrix
und Kristallbildung in mensch-
lichen Speichelsteinen.
1. Mitteilung.
Dtsch. zahnärztl. Zschr. 24, 663
(1969)
- JENSEN, T.A. and
M. DANØ
Crystallography of dental cal-
culus and the precipitation of
certain calcium phosphates.
J. dent. Res. 33, 741 (1954)

- KOPCZYK, R.A. and
C.W. CONROY
The attachment of calculus to
root planed surfaces.
Periodontics 6, 78 (1968)
- KRASSE, B. and
J. EGELBERG
The relative proportions of
sodium, potassium and calcium
in gingival pocket fluid.
Acta odont. Scand. 20, 143 (1962)
- LENZ, H.
Elektronenmikroskopische Unter-
suchungen am Zahnoberhäutchen.
Habilitationsschrift, Berlin
(1970)
- LENZ, H.,
H.E. SCHROEDER und
H.R. MÜHLEMANN
Beitrag zur Mikromorphologie
und Genese des Zahnsteins.
Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 74,
132 (1964)
- LEUNG, S.W. and
A.T. JENSEN
Factors controlling the depo-
sition of calculus.
Int. dent. J. 8, 613 (1958)
- LITTLE, M.F.,
C.A. CASCIANI and
S. LENSKY
The organic matrix of dental
calculus.
J. dent. Res. 40, 753 Abstr.
(1961)
- LITTLE, M.F.,
C.A. CASCIANI and
J. ROWLEY
Dental calculus composition.
1. Supragingival calculus:
Ash, Calcium, Phosphorus, So-
dium, and Density.
J. dent. Res. 42, 78 (1963)
- LITTLE, M.F. and
S.P. HAZEN
Dental calculus composition.
2. Subgingival calculus:
Ash, Calcium, Phosphorus, and
Sodium.
J. dent. Res. 43, 641 (1964)
- LUNDBERG, M.,
R. SÖREMARK and
H. THILANDER
Analysis of some elements in
supra- and subgingival calculus.
J. periodont. Res. 1, 245 (1966)
- MANDEL, I.D.
Diskussionsbeitrag in
International Conference on
Dental Plaque presented by
The American Dental Association
and Warner-Lambert Pharmaceuti-
cal Company.
New York (1969)

- MANDEL, I.D. and
B.M. LEVY
Studies on salivary calculus.
1. Histochemical and chemical
investigations of supra- and
subgingival calculus.
Oral Surg. 10, 874 (1957)
- MANDEL, I.D.,
B.M. LEVY and
B.H. WASSERMANN
Histochemistry of calculus
formation.
J. Periodont. 28, 132 (1957)
- MATHIS, H.
Der supragingivale Zahnstein.
Dtsch. Zahn-, Mund- und Kiefer-
heilkunde 5, 114 (1938)
- MATHIS, H.
Die Sogenannte Parodontose.
Urban & Schwarzenberg, Wien (1948)
- MC MILLAN, L.,
D.Y. BURRILL and
L.S. FOSDICK
Some observations on the exudate
from periodontal pockets.
J. Amer. dent. Ass. 57, 484 (1958)
- MÉZL, Z.
La formation du tartre.
Rev. Stomat. 51, 121 (1950)
- NAESLUND, C.
Untersuchung über die Ursachen
und das Entstehen des Zahnsteines.
Odontol. Tidskr. 3, 1 (1926)
- NAESLUND, C.
Über Kalkausfällung durch Mikro-
organismen.
Biochem. Z. 184, 1 (1927)
- NEWSELY, H.
Über die Existenzbedingungen von
Octacalciumphosphat, Whitlockit
und Carbonatapatit.
Dtsch. zahnärztl. Zschr. 20,
753 (1965)
- NEWSELY, H.
Calcifying processes within
superficial layers of the dental
plaque.
Caries Res. 2, 19 (1968)
- ORBAN, B.J.
Parodontologie. S. 71 ff.
Verlag "Die Quintessenz",
Berlin (1965)
- PRINZ, H.
The origin of salivary calculus.
Dent. Cosm. 63, 231; 369; 503
(1921)

- RIZZO, A.A.,
D.B. SCOTT and
H.A. BLADEN
Calcification of oral bacteria.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 109, 14
(1963)
- RÖMER, O.
Über Alveolarpyorrhoe.
Schweiz. Vjschr. Zahnheilk. 13,
1 (1903)
- ROWLES, S.L.
The inorganic composition of
dental calculus.
In: Bone and Tooth.
Proc. First Europ. Symp.
(H.J.J. Blackwood, Ed.) Oxford,
1963
Pergamon Press, London, 175 (1964)
- SACHS, H.
Beiträge zur Kenntnis von Bil-
dung des Zahnsteins und seiner
Verhütung.
Dtsch. Mschr. Zahnheilk. 32,
113 (1914)
- SCHNEIDER, U.
Frühstadien des Zahnsteins.
Eine histologische Studie.
Inaug. Diss., Zürich (1959)
- SCHROEDER, H.E.
Two different types of minerali-
zation in early dental calculus.
Helv. odont. Acta 8, 117 (1964)
- SCHROEDER, H.E.
Formation and Inhibition of
dental calculus.
Hans Huber Publishers, Berne (1969)
- SCHROEDER, H.E.,
H. LENZ and
H.R. MÜHLEMANN
Mineralization centers in early
dental calculus by light and
electron microscopy.
Helv. odont. Acta 7, 67 (1963)
- SCHROEDER, H.E.,
H. LENZ und
H.R. MÜHLEMANN
Mikrostrukturen und Verkalkungs-
vorgänge im jungen Zahnstein.
Dtsch. zahnärztl. Zschr. 19, 2
(1964)
- SCHROEDER, H.E. and
H.U. BAMBAUER
Stages of calcium phosphate
crystallisation during calculus
formation.
Arch. oral. Biol. 11, 1 (1966)

- SCHULTZ-HAUDT, S.D.,
J. WAERHAUG,
S.H. FROM and
A. ATTRAMDAL
On the nature of contact between
the gingival epithelium and the
tooth enamel surface.
Periodont. 1, 103 (1963)
- SENN, A.
Die Alveolarpyorrhoe und ihre
Heilbarkeit.
Schw. V. f. Zahnheilk. (1902)
zit. nach BRAMMER (1926)
- TAKAZOE, I.
Study on the intracellular
calcification by oral aerobic
leptotrichia.
Shikwa Gakuho 61, 394 (1961)
- THEILADE, J.
The microscopic structure of
dental calculus.
Univ. Rochester, Thesis.
Rochester, N.Y. (1960)
- THEILADE, J.
Electron microscopic study of
calculus attachment to smooth
surfaces.
Acta odont. Scand. 22, 179 (1964)
- THEILADE, J. and
H.E. SCHROEDER
Recent results in dental cal-
culus research.
Int. dent. J. 16, 205 (1966)
- TURESKY, S.,
G. RENSTRUP and
I. GLICKMAN
Histologic and histochemical
observations regarding early
calculus formation in children
and adults.
J. Periodont. 32, 7 (1961)
- VAHL, J.,
H.J. HÖHLING,
F. GÜLLENSTERN und
E. WANNENMACHER
Ein Beitrag zur elektronenop-
tischen und röntgenographischen
Untersuchung supragingivaler Be-
läge auf Zahnfolien.
III. Mitteilung.
Dtsch. Zahnärztebl. 18, 1 (1964)
- WAERHAUG, J.
The source of mineral salts in
subgingival calculus.
J. dent. Res. 34, 563 (1955)
- WAERHAUG, J. and
E. STEEN
The presence or absence of bac-
teria in gingival pockets and
the reaction in healthy pockets
to certain pure cultures.
Odontol. Tidskr. 60, 1 (1952)

WASSERMAN, B.H.,
I.D. MANDEL and
B.M. LEVY

In vitro calcification of
dental calculus.
J. Periodont. 29, 144 (1958)

ZANDER, H.A.

The attachment of calculus
to root surfaces.
J. Periodont. 24, 16 (1953)

ZANDER, H.A.

A method for studying "the
epithelial attachment".
J. dent. Res. 35, 308 (1956)

ZANDER, H.A.,
S.P. HAZEN and
D.B. SCOTT

Mineralization of dental cal-
culus.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med.
103, 257 (1960)

Mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas gilt an dieser Stelle Herrn Professor Dr. Hans LENZ. Seine ständige Bereitschaft zur Diskussion erbrachte viele Anregungen und war mir eine große Hilfe bei der Gestaltung dieser Arbeit.

Frau Helga ADAM danke ich für die Unterstützung bei den elektronenmikroskopischen Untersuchungen und die Durchführung der photographischen Arbeiten.

LEBENS LAUF

Am 11. Juli 1941 wurde ich als erster Sohn des staatlichen Revierförsters Hans Schliepe und seiner Ehefrau Gerda, geb. Riemer, in Ortelsburg/Ostpr. geboren.

Meine Schulzeit verbrachte ich in Bremen, wo ich 1961 das Abitur bestand.

Von 1961 bis 1963 absolvierte ich meinen Wehrdienst bei der Bundeswehr und wurde als Leutnant der Reserve entlassen.

Den vorklinischen Teil meines Studiums schloß ich mit der zahnärztlichen Vorprüfung an der Universität Kiel ab. Im klinischen Teil studierte ich an der Freien Universität Berlin und bestand dort die zahnärztliche Prüfung im Februar 1969.

Seitdem bin ich als wissenschaftlicher Assistent in der Chirurgischen Abteilung der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten der Freien Universität Berlin tätig.

